

109
26

FACULTAD DE QUÍMICA

Estudio de Pruebas Fisiológicas y Bioquímicas de Cien Cepas de *Pityrosporum ovale*

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA

264714

PRESENTA:

NANCY SALCADO FLORES





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

Presidente Prof. Gutiérrez Ramos Abel

Vocal Prof. Bonifaz Trujillo José Alexandro

Secretario Prof. González Ibarra Misael

1er. Suplente Prof. Castellanos Chavéz Norma Angélica

2º Suplente Prof. García Gómez Rolando Salvador

Sitio donde se desarrollo el tema:

HOSPITAL GENERAL DE MÉXICO.SSA.
LABORATORIO DE MICOLOGÍA
UNIDAD DE DERMATOLOGÍA.

Aesor del tema



M. en/C. José Alexandro Bonifaz Trujillo

Sustentante



Nancy Salgado Flores

*Es muy importante reflexionar sobre
Lo que se puede alcanzar en la vida...Nos*

*Forjamos siempre nuestro camino, con la
Ilusión de llegar algún día a lo que anhelamos pero
No imaginamos que tan fácil o difícil puede ser*

Y entonces debemos tener presente algo...

*Es Dios quien con su infinita sabiduría
Lo hace posible y nos regala esta satisfacción...*

*Pero a cada paso debemos de
Recordar que el Señor nos puede
Imponer pruebas difíciles, que hacen que
Nosotros valoremos siempre que
Cada una de nuestras metas pueden alcanzarse al
Insistir con fe y constancia y que al llegar a ellas, a su fin,
Principia una vida distinta, con más amor, espíritu de superación,
Ilusiones nuevas que nos seguirán dando fortaleza para vencer los
Obstáculos que se puedan presentar, porque es lo que realmente
queremos...*

¡ Ser cada día mejores !

DEDICATORIAS

A mis padres que de diferente manera pero con el mismo objetivo me alentaron en los momentos más difíciles, brindándome siempre su apoyo incondicional. Gracias.

A mis hermanos Adolfo y Ale.

A mis tíos Ricardo y Coquina,

A Sandra y Ena

AGRADECIMIENTOS

Al Profesor Bonifaz amigo-maestro ó maestro-amigo, no lo se.

A Claudia y Adolfo por su ayuda en éste trabajo.

A Javier, Perla, Angeles, Caro, Rocio, Areli y Hernestina por una agradable estancia en el laboratorio de Micología.

A Adriana, Agustín, Ale, Olga, y demas amigos de la generación 90 por su amistad, haciendo menos difícil la estancia en la Facultad.

A Mauri, Gabriel, Carlos Raúl, Manuel, Gilberto, Emilio, Javier y Alejandro amigos con los que comparto recuerdos inolvidables.

A Ivonne, que a pesar de la distancia conservamos una amistad sincera.

Al Doctor Carrasco.

A la Maestra Marú, Itzetl y a la Secundaria No. 11, mi primer centro de trabajo.

Al Hospital General de México, Servicio de Dermatología, lugar en el que fue posible realizar éste trabajo.

A la UNAM, facultad de Química por la gran oportunidad de mi formación profesional.

A Federico.

INTRODUCCION.....	1
OBJETIVOS.....	4
GENERALIDADES.....	6
Definición.....	7
Aspectos Epidemiológicos.....	7
Etiopatogenia.....	8
Entidades Clínicas.....	11
Diagnóstico.....	16
Tratamiento y Profilaxis.....	17
METODOLOGIA.....	18
Criterios de inclusión.....	19
Criterios de exclusión.....	19
Metodología.....	20
RESULTADOS.....	27
DISCUSION.....	63
CONCLUSIONES.....	69
APENDICE.....	72
BIBLIOGRAFIA.....	76



INTRODUCCION

□ INTRODUCCION

Pityrosporum ovale es una levadura lipofilica parte de la flora habitual de la piel de la mayoría de adultos y adolescentes y excepcionalmente en niños;su crecimiento por lo regular está asociado por el aumento de las secreciones sebáceas.

Pityrosporum ovale en general es un microorganismo inocuo que habita en un equilibrio en las zonas grasas de la piel,sin embargo,se ha asociado a algunos padecimientos como son:dermatitis seborreica y atópica,blefaroconjuntivitis,foliculitis y dacriocistitis;su participación en estos procesos no es del todo conocida,pero su presencia por lo regular exacerba estas enfermedades.Existen otros padecimientos en el que actúa el complejo *Pityrosporum ovale* o *Pityrosporum furfur* ,como agente etiológico tal es el caso de pitiriasis versicolor.

Recientemente se ha reclasificado al *Pityrosporum sp.* en el género *Malassezia*,en éste sólo se incluía a *M. furfur*,el cual se considera el agente etiológico de pitiriasis versicolor.Actualmente en este complejo se incluyen aproximadamente a 7 especies que se diferencian entre ellas en base a sus características micromorfológicas,bioquímicas y fisiológicas.

El presente trabajo tiene como objetivo tratar de identificar y diferenciar las especies del género *Malassezia* aisladas de pacientes con las diversas entidades clínicas,dermatitis seborreica,pitiriasis capitis,pitiriasis versicolor y zonas grasas de individuos sanos,en base a su micromorfología,algunas pruebas bioquímicas y fisiológicas y sobre todo por la asimilación de tensoactivos de tipo tween;asimismo se incluirá en la utilización de carbohidratos en base al auxonograma.(1,9,11,13,19)

Aunque la tipificación de las diversas especies sigue siendo compleja y en ocasiones subjetiva, la intención del estudio es tratar de diferenciar y reconocer en nuestro medio las diversas especies de *Malassezia sp.* (*Pityrosporum sp.*) e intentar dar una explicación a la participación en las diversas entidades y procesos a los que se asocia.



OBJETIVOS

❑ OBJETIVOS

- ◆ Seleccionar la mejor fuente de ácidos grasos para el primoaislamiento de *Pityrosporum sp.* a partir de muestras clínicas.

- ◆ Tratar de identificar las siete especies de *Pityrosporum sp.* en base a su micromorfología, propiedades bioquímicas y fisiológicas.



GENERALIDADES

□ DEFINICION

La pitiriasis versicolor es una micosis superficial crónica causada por *Malassezia furfur*, hongo levaduriforme lipofílico, que se caracteriza por generar manchas de fina descamación (de aquí el nombre de pitiriasis) y variable color, que pueden ser hipo- o hiperpigmentadas, generalmente localizadas en el tronco, cuello, cara, piel cabelluda y brazos. (1-3)

□ ASPECTOS EPIDEMIOLOGICOS

♦ Edad y sexo. La pitiriasis versicolor predomina en adultos jóvenes entre 15-35 años, sin embargo, se han descrito casos en lactantes, niños y ancianos. El sexo no influye en la enfermedad, es decir ocurre en el mismo porcentaje. (4-7)

♦ Ocupación. No se ha reportado que ninguna ocupación genere influencia sobre el padecimiento.

♦ Distribución geográfica. La pitiriasis versicolor ha sido reportada en todo el mundo, predominando en zonas tropicales y subtropicales con altas temperaturas y humedad; en México predomina en las zonas de las costas como el Golfo y el Pacífico mexicano. (1,8)

◆ Factores predisponentes. Son de dos tipos: exógenos como altas temperaturas y humedad, exceso de cremas, bronceadores grasosos y endógenos como piel seborreica, hiperhidrosis, acumulación de glucógeno extracelular, infecciones crónicas, obesidad, leucemia, aterosclerosis, malnutrición, corticoesteroides (tópicos y sistémicos), antibióticos, inmunosupresores, embarazo, factores genéticos, entre otros. (1,8,9,10).

□ ETIOPATOGENIA

M. furfur es una levadura lipofílica que se encuentra en la piel como flora normal y se comporta como saprófito. Puede ser aislada del 90 al 100% en piel grasa de la población adulta.

La conversión *in vivo* levadura a filamento (forma parasitaria) se ha demostrado estar relacionada con la acumulación de algunos lípidos como ácido oleico, linoleico, escualeno y colesterol en la superficie de la piel, además de otros factores (endógenos y exógenos).

M. furfur es capaz de inducir una respuesta inflamatoria con infiltrado leve constituido por linfocitos CD4+. Se han demostrado anticuerpos específicos y capacidad para activar complemento, cuyo resultado es la generación de C5a, un químico atrayente de neutrófilos. (1,4,8,11-15).

El género *Pityrosporium sp.* fue recientemente denominado como *Malassezia sp* en el XIII Congreso Internacional de Micología; actualmente se han descrito siete especies diferentes para el género *Malassezia*.

Todas las especies tienen morfología característica, excepto *M. furfur* que presenta tres.

M. pachydermatis se caracteriza por células ovoides de 2-2.5 x 4-4.5 μm con una base ancha.

M. furfur es la única especie que tiene variable micromorfología, presenta tres formas, las cuales son: células cilíndricas largas de 1.5-3 x 2.5 -8 μm de diámetro, ovoides o globosas (redondas) de 2.5-5 μm de diámetro.

M. sympodialis se caracteriza por células pequeñas ovoides de 1.5-2.5 x 2.5-6 μm .

M. globosa tiene células redondas estables de 2.5-8 μm de diámetro. su gema está formada por una base estrecha y elongada como una forma típica del tubo de germinación.

M. obtusa presenta células largas y cilíndricas de 1.5-2 x 4-6 μm con base ancha.

M. restricta está formada por células pequeñas esféricas u ovoides de 1.5-2 x 1.5-4 μm con una base relativamente estrecha.

M. slooffiae caracterizada por células pequeñas cilíndricas de 1-2 x 1.5-4 μm . con gema formada en una base ancha.

M. pachydermatis es la única especie no lípido dependiente y puede crecer en cualquier medio convencional; se ha aislado de animales de sangre caliente al igual que *M. slooffiae* (lípido dependiente). (19-22)

Composición celular. La composición de la pared celular en promedio del género *Malassezia sp.* es 72% de polisacáridos (glucosa), 7.5% de proteínas y 18.3% de lípidos. Tiene un grosor hasta de 12 μm lo que representa del 25 al 35% del volumen total de la célula.

Las diferentes especies muestran número variable de mitocondrias, que pueden ser de 3 hasta 23 por célula. (12, 13, 23)

Malassezia sp. es una levadura lípido dependiente (excepto *M. pachydermatis*) capaz de hidrolizar triglicéridos y producir ácidos grasos libres a partir del sebo o piel normal.

Malassezia sp. requiere *In vitro* de una fuente de ácidos grasos de 12 a 24 carbonos, adicionados al medio de cultivo para la síntesis de membrana. Una misma especie con diferente fuente de lípidos, quizás tenga diferencias bioquímicas según Ingham y Cunningham. (13, 24)

El color de las lesiones de la piel en la pitiriasis versicolor varía desde café hasta rosa y blanco. La patogénesis de las lesiones hipo- e hiperpigmentadas no son del todo entendidas aún. Se proponen factores como: el racial; exposición a la luz, *M. furfur* filtra la luz UV y consecuentemente previene la pigmentación de las áreas afectadas; reacción cutánea inflamatoria que ha sido reportada que actúa como estímulo a la producción de melanocitos.

En lesiones hiperpigmentadas se observa mayor engrosamiento de la capa de queratina y mayor número de esporas e hifas, además de un mayor número de melanosomas (aunque más pequeñas de lo normal) que en lesiones hipopigmentadas.

Otra explicación podría ser la disminución en la producción de melanina.



*Tirosinasa. Inhibición competitiva por ácidos dicarboxílicos (8-13 C). (9,25-27)

□ ENTIDADES CLINICAS

Pityrosporum ovale y *Pityrosporum orbiculare*, participan como agentes etiológicos en infecciones asociadas de las siguientes entidades clínicas:

- ☞ Dermatitis seborreica
- ☞ Foliculitis
- ☞ Dacriocistitis
- ☞ Blefaroconjuntivitis
- ☞ Dermatitis atópica
- ☞ Psoriasis
- ☞ Onicomiosis

La participación de *P. ovale* y *P. orbiculare* en los padecimientos anteriormente citados es poco clara, para algunos autores (2,4,7,28,29) actúan como agentes etiológicos, mientras que para otros son flora asociada a estos procesos.(1,12,13,30-33).

* Dermatitis seborreica.

Es una dermatosis inflamatoria caracterizada por lesiones rojizas, escamosas y oscuras, pruriginosas de evolución crónica y recidivantes, se presentan en regiones donde hay abundantes glándulas sebáceas, como en el cuero cabelludo, cara y parte superior del tronco; puede presentarse en niños y adultos jóvenes (más común en hombres que en mujeres) de causa desconocida o bien multifactorial. Algunos estudios indican que *Pityrosporum ovale* está asociado con la dermatitis seborreica, ya que los

pacientes muestran buena respuesta a los antimicóticos, paralelamente a una reducción en el número de microorganismos.

El tratamiento es a base de lociones y pomadas con ácido salicílico, azufre y alquitrán de hulla; también es efectivo el uso concomitante de champús y cremas con ketoconazol, champús con sulfuro de selenio y piritione de zinc, propilenglicol, otros imidazoles y terbinafina. (1,2,7,28,30-34)

* Foliculitis por *Pityrosporum sp.*

La foliculitis es un padecimiento caracterizado por pápulas foliculares pruriginosas y pústulas. Afecta a personas de 25 a 35 años en ambos sexos por igual. La topografía más frecuente es en la parte superior del tronco y brazos; y la menos frecuente en antebrazos, dorso de las manos, parte baja de las piernas y cara.

La foliculitis por *Pityrosporum sp.* tiene distribución mundial, sin embargo es más frecuente en climas tropicales. Los factores predisponentes son embarazo, calor, humedad, oclusión, diabetes mellitus, inmunosupresión y tratamientos con antibióticos.

El diagnóstico está basado en los aspectos clínicos característicos y se apoyan con un examen directo donde se observan blastoconidias y algunas veces hifas; cultivos en medios grasos; estudios histopatológicos que muestran acumulaciones de levaduras en los folículos, circundadas por células inflamatorias.

La foliculitis por *Pityrosporum sp.* muestra buena respuesta al tratamiento con antimicóticos, pero tiende a recidivar en ausencia de medidas profilácticas.

Se recomienda propilenglicol a 50% en agua. Los imidazoles tópicos y el disulfuro de selenio también son eficaces. En casos extensos o ineficacia al tratamiento tópico, se utiliza ketoconazol vía oral da buenos resultados. (1,4,11,35-37).

* Dacriocistitis

Es la obstrucción del conducto lacrimal generalmente ocasionada por infecciones bacterianas pero también se ha atribuido a hongos como *C. albicans* y *P. orbiculare*.

El tratamiento de elección para este padecimiento es el quirúrgico (drenado) asociado con algún azol sistémico como ketoconazol o itraconazol. (9)

* Blefaroconjuntivitis

Es una irritación de la conjuntiva, con aumento de la vascularización, afecta el borde libre de los párpados con eritema, descamación y pérdida parcial de las pestañas, cursa por lo regular con intenso prurito y se observa frecuentemente en niños.

Puede ser originado por medios mecánicos como el tallado de ojos. La parasitación por *P. ovale* se explica porque el ojo presenta secreción sebácea que estimula el crecimiento de éste por ser un microorganismo lipofílico.

El tratamiento más adecuado es a base de soluciones o cremas de tolciclato, ketoconazol o clotrimazol. (9)

* Dermatitis atópica y *Pityrosporum sp.*

La patogénesis de la dermatitis atópica es desconocida; autores como Inham E. and Cunninham C. (13) sugieren que *P. ovale* sea un alérgeno en algunos pacientes, especialmente adultos, con distribución en cabeza, cuello y cuero cabelludo. La mayoría de los pacientes con dermatitis atópica tienen incremento del nivel sérico de IgE.

El tratamiento más adecuado es el uso de ketoconazol vía oral. (1,38,39).

* Psoriasis

Es una dermatosis asintomática, caracterizada por placas eritematoescamosas bien definidas, localizadas en codos, rodillas, región sacra y piel cabelluda, pero pueden afectar toda la superficie cutánea y las uñas. Se desconoce la causa, sin embargo parecen influir factores inmunitarios, genéticos, psicósomáticos, ambientales, bacteriológicos y micológicos.

Es frecuente en todo el mundo. Afecta a ambos sexos en cualquier edad.

No se requieren exámenes micológicos. Se encuentran las alteraciones propias de las enfermedades acompañantes; cuando se complica con candidosis se encuentra

C. albicans y en las psoriasis de piel cabelluda suele aislarse también *P. ovale*, su incremento y participación es desconocida y sólo se sospecha que está presente por el aumento de depósitos de ácidos grasos.

El tratamiento útil es a base de ketoconazol sistémico o en champú. (9,12).

* Onicomicosis

Se han reportado algunos casos de infección ungueal por *P. ovale* y *P. orbiculare*, se manifiesta similar a los de *Candida sp.*, es decir inicia en el borde proximal, cursando por perionixis o en forma de onicólisis (desprendimiento de la uña).

El tratamiento sistémico es a base de ketoconazol o itraconazol.(9)

□ DIAGNOSTICO DE LABORATORIO

Para el diagnóstico micológico, se requiere raspar las manchas de fina escama, o bien se pega una tira de cinta adhesiva transparente sobre las mismas y después se adhiere a un portaobjetos, utilizando como aclarante una solución de KOH al 20 ó 40%, esta observación es más evidente con el uso de tinta azul "Parker". Al microscopio se observan blastoconidias con filamentos cortos.

Los cultivos no son necesarios para el diagnóstico; éstos se realizan en medios enriquecidos a base de Sabouraud más antibióticos (Micosel), con lípidos como aceite de oliva al 10 ó 15%. Se incuban a 25 ó 32°C durante 8 días, desarrollando colonias cremosas, blanco-amarillentas. Al microscopio se observan blastoconidias con gemaciones pequeñas.

Con luz ultravioleta de baja potencia o denominada de Wood se observa mejor el límite de la lesión, generando fluorescencia amarillo-dorado, esto es debido a una sustancia que contiene el hongo denominada coproporfirina.

Rara vez se realiza biopsia. Con tinciones de hematoxilina y eosina, las hifas tienen un aspecto basófilo, localizándose en el estrato córneo, en ocasiones se aprecia un proceso ligeramente inflamatorio. También se pueden utilizar las tinciones de metenamina de plata, Giemsa y PAS. (2,4,9,11,40).

□ TRATAMIENTO

Es una enfermedad con buen pronóstico, pero con frecuentes recidivas. Se usan lociones, cremas o jabones con ácido salicílico y azufre a 1 ó 3%, ungüento de Whitfield, tolnaftato en loción o crema; piritione de zinc; disulfuro de selenio a 2.5% o ketoconazol al 2%, alilaminas tópicas como terbinafina y naftifina; amorolfina, ciclopiroxolamina y por vía oral ketoconazol.

Como profilaxis, una dosis al mes de ketoconazol o bien uso tópico de champú de piritione de zinc, disulfuro de selenio o imidazólicos; polvos o talcos con imidazoles o jabones queratolíticos. (2,4,11)



METODOLOGIA

□ METODOLOGÍA

Para este estudio se incluyeron 100 pacientes que cumplieran los siguientes criterios y metodología.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- * Cualquier paciente con dermatitis seborreica definida o con alguna entidad clínica relacionada con *Pityrosporum sp.*
- * Pacientes que no hayan recibido tratamiento antimicótico tópico durante 2 semanas previas y, un mes en los sistémicos.
- * Pacientes con un buen estado de salud.
- * Pacientes que no estén sometidos a terapia hormonal.
- * Consentimiento del paciente para ingresar al estudio.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- * Pacientes que no cumplan con los tiempos estipulados de uso de antimicóticos.
- * Pacientes que estén bajo terapia hormonal.
- * Pacientes inmunosuprimidos por diversos procesos o tratamientos.
- * Pacientes que no cooperen en el estudio.

□ TOMA DE MUESTRA

La toma de muestra se efectuó en áreas seboreicas evidentes como: centro facial, o en las áreas del tórax por la cara anterior y posterior, o bien otras topografías que afectan las entidades clínicas como la pitiriasis versicolor, dermatitis seboreica, foliculitis, etc., relacionadas a *Pityrosporum sp.*

El material seboreico fue tomado con un asa micológica, con la que se hizo un ligero raspado, el cual se colocó en un portaobjetos para posteriormente realizar una tinción de Gram.

Se realizaron otras tomas de muestra del material seboreico, las cuales se sembraron en cuatro medios de cultivo que tenían como base Micosel agar (Sabouraud más antibióticos) más una fuente de ácidos grasos.

* Tinción de Gram

Con el propósito de observar al microscopio y semicuantificar las formas y estructuras micóticas.

* Cultivo

Las muestras de material seboreico se sembraron en 4 tubos 16x150 con un medio base de Micosel más 15% de fuente de ácidos grasos; las diversas fuentes fueron:

aceite de oliva, aceite comestible, manteca de cerdo y aceite de coco. Se incubaron de 8 a 30 días a 28°C.

Después del tiempo de incubación se seleccionaron los cultivos con mejor desarrollo. Se observaron las características macroscópicas de las colonias y se confirmó la presencia de *Pityrosporum sp.* microscópicamente con tinción de Gram.

Los cultivos se mantuvieron bajo refrigeración (4°C).

Fundamento

Los ácidos grasos oleico y linoleico presentes en el sebo humano parecen ser esenciales en el desarrollo de *Pityrosporum sp.*, por esta razón fueron incluidos en el estudio el aceite de oliva, comestible, coco y manteca de cerdo, todos contienen ambos ácidos grasos. (8,19,41,42)

Con las cepas aisladas se llevaron a cabo las siguientes pruebas:

* Tubo germinativo

Se realizó la determinación de tubo germinativo, teniendo como control positivo *Candida albicans*.

La prueba se realizó de la siguiente manera:

1. Se suspendió una pequeña porción de colonia de la levadura en estudio en un tubo de ensaye que contenía 0.5 mL de suero humano reciente.

- 2.El tubo se incubó a 37°C durante tres horas agitando constantemente.
- 3.Una gota de la suspensión levadura-suero se colocó entre un porta y un cubreobjetos;se examinó al microscopio para comprobar la presencia de tubos germinales.

Se realizaron dos lecturas,la primera a la hora y media y la segunda a las tres horas de incubación.Se reportó como positiva (+) la formación del tubo germinativo y la prueba negativa (-) si la cepa no lo formaba.

Fundamento

La mayoría de los tubos germinativos aparecen como extensiones,es decir formación de hifas a partir de la célula de levadura,sin una constricción en el punto de origen de la célula.

Candida albicans se utilizó como control positivo,ya que esta cepa es la más adecuada para la formación de tubos germinativos.(43,44)

Para la identificación de las diferentes especies del género *Pityrosporum sp.* (*Malassezia sp.*)se llevaron a cabo las siguientes pruebas:

*** Asimilación de tensoactivos tipo Tween 20,40,60 y 80**

La prueba de asimilación de tensoactivos tipo tween, se llevó a acabo en placas con medio base de Micosel agar y discos impregnados (sensidiscos) con tween 20,40,60 ó 80 y control (sin tensoactivo); el tiempo de incubación fue de 2-8 días a 28°C y la lectura se hizo de la siguiente manera:

La utilización de los diversos tensoactivos fue evaluada por el grado de crecimiento, halo de inhibición o precipitación de las levaduras lipofílicas alrededor de los sensidiscos.

Es importante remarcar que las áreas de inhibición pueden ser enmascaradas por un fenómeno de precipitación blanco-opalescente alrededor de los sensidiscos. Según Guillot J., et al (19) este fenómeno quizás corresponde a la hidrólisis de Tween con la precipitación de la parte insoluble de los ácidos grasos (ácido láurico para tween 20, palmítico para tween 40, estéarico para tween 60 y oleico para tween 80) o sales. (42-45)

* *Catalasa*

Prueba en portaobjeto:

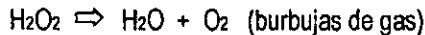
1. Con un palillo aplicador transferir células del centro de una colonia a la superficie de un portaobjeto.
2. Añadir una o dos gotas de peróxido de hidrógeno al 3%. Se recomienda no añadir el organismo al reactivo (invirtiendo el orden), especialmente si se utilizan agujas o asas que contienen hierro, ya que pueden producir falsos positivos.

Interpretación:

Prueba cualitativa: la rápida aparición y producción sostenida de burbujas de gas indica una reacción positiva. Cuando existen pocas burbujas formadas a los 20 a 30 segundos no se considera como una prueba positiva, ya que otras enzimas pueden descomponer el peróxido de hidrógeno.

Fundamento

El peróxido de hidrógeno se forma como uno de los productos finales del metabolismo oxidativo o aeróbico de los hidratos de carbono. Si se deja acumular el peróxido de hidrógeno es letal para las células. La catalasa transforma al peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno. (19,44)

*** Aceite de ricino**

En placas de Micosel divididas en 4 partes se sembró por estría una porción de colonia tomada de los cultivos y se colocó encima un sensidisco impregnado con aceite de ricino. El tiempo de incubación fue de 14 días a 28°C.

La asimilación de aceite de ricino por *M. furfur* es una prueba más que ayuda a la diferenciación con las otras especies. (Es la única que lo hace). (46)

* Tinción de Gram

Con tinción de Gram se trató de identificar morfológicamente al microscopio las siete especies de *Malassezia sp.*

Guillot J., et al (19-47) reportaron 7 especies de *Malassezia*, basándose en su morfología y pruebas fisiológicas (catalasa, asimilación de tensoactivos, etc.). La descripción de las características micromorfológicas se presenta a continuación:

M. pachydermatis se caracteriza por células ovoides de 2-2.5 x 4-4.5 μm con una base ancha.

M. furfur es la única especie que tiene variable micromorfología, presenta tres formas, las cuales son: células cilíndricas largas de 1.5-3 x 2.5-8 μm de diámetro, ovoide o globosas (redondas) de 2.5-5 μm de diámetro.

M. sympodialis caracterizada por células pequeñas ovoides de 1.5-2.5 x 2.5-6 μm .

M. globosa tiene células redondas estables de 2.5-8 μm de diámetro. su gema está formada por una base estrecha y elongada como una forma típica del tubo de germinación.

M. obtusa presenta células largas y cilíndricas de 1.5-2 x 4-6 μm con base ancha.

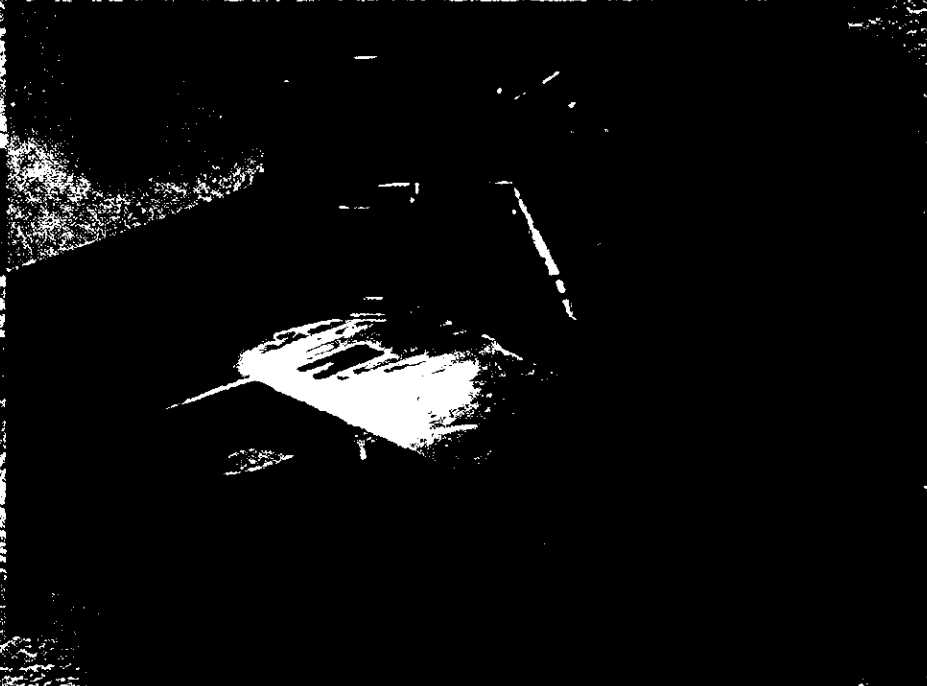
M. restricta está formada por células pequeñas esféricas u ovoides de 1.5-2 x 1.5-4 μm con una base relativamente estrecha.

M. slooffiae caracterizada por células pequeñas cilíndricas de 1-2 x 1.5-4 μm . con gema formada en una base ancha.

* Auxonograma

El auxonograma se llevó a cabo por el método de Micro-Scan, reportando la utilización de carbohidratos en base a la asimilación.

Auxonograma es la utilización o asimilación de alimentos con carbono o nitrógeno. Es importante en levaduras para definir la especie con base en las características fisiológicas. (48)



RESULTADOS

□ RESULTADOS

Para este estudio se incluyeron 100 pacientes de los cuales 33 fueron del sexo femenino y 67 masculino; la edad de los pacientes osciló entre los 13 y 53, con un promedio de 22 años.

En las tablas 1 A-D se muestran las entidades clínicas, topografía, microscopía y desarrollo en las diferentes fuentes de ácidos grasos en donde se aisló a *Pityrosporum sp.*; su correspondiente representación se observa en las gráficas 1 a 4.

La relación entre las diferentes entidades clínicas y topografía se muestra en la tabla 2.

La relación cuantitativa de *Pityrosporum sp.* con la zona grasa y dermatitis seborreica se muestra en la tabla 3 y su correspondiente representación en las gráficas 5 y 6.

Las pruebas fisiológicas y bioquímicas realizadas a las cepas se ilustran en las tablas 4 A-E y 5. Los resultados de las pruebas de tubo germinativo, catalasa y aceite de ricino se presentan en las gráficas 7-9 respectivamente; la relación entre entidad clínica y las pruebas anteriores se presenta en las tablas 6-8.

El aprovechamiento de los diferentes tensoactivos tipo Tween se visualiza en las tablas 9.1 a 9.10; y su correspondiente representación en las gráficas 10.

La observación al microscopio de las especies de *Pityrosporum sp.* se muestra en las tablas 10 A-D y se ilustra en la gráfica 11. En la tabla 11 se observa la relación topografía y morfología.

En las tablas 12.1 a 12.7 se ilustra la relación entre el aprovechamiento de los diferentes Tween y la morfología de *Pityrosporm sp.*

TABLA GENERAL IA
AISLAMIENTO DE
P. ovale

No.	Sexo	Edad	Topografía	Entidad Clínica	Tinción de Gram	Fuente de ácidos grasos Oлива Com. Mant. Coco
1	M	22	C. facial	Z. grasa	P. ovale (+)	X X
2	M	27	C. facial	Z. grasa	P. ovale (+)	X X X
3	M	21	C. facial	Z. grasa	P. ovale (++)	X X X
4	M	28	C. facial	Z. grasa	P. ovale (+)	X X X
5	F	27	C. facial	Z. grasa	P. ovale (+)	X X X
6	M	38	Tronco	P. versicolor	pseudofil. y blast.	X X
7	M	15	C. facial	D. seborreica	P. ovale (+)	X X
8	F	18	Cabeza	D. seborreica	P. ovale (+++)	X X
9	M	39	C. facial	D. seborreica	P. ovale (+)	X X
10	M	28	C. facial	Z. grasa	P. ovale (+)	X X
11	M	17	C. facial	Z. grasa	P. ovale (+)	X X
12	M	25	C. facial	D. seborreica	P. ovale (+)	X X
13	F	21	C. facial	D. seborreica	P. ovale (++)	X X X
14	F	15	C. facial	D. seborreica	P. ovale (++)	X X X
15	M	31	C. facial	Z. grasa	P. ovale (+)	X X
16	M	15	Tronco	P. versicolor	pseudofil. y blast.	X X
17	M	44	Tronco	P. versicolor	pseudofil. y blast.	X X
18	F	18	C. facial	D. seborreica	P. ovale (++)	X X X
19	M	20	C. facial	D. seborreica	P. ovale (++)	X X X
20	F	53	C. facial	Z. grasa	P. ovale (+)	X X
21	F	26	C. facial	Z. grasa	P. ovale (+)	X X
22	M	16	C. facial	Z. grasa	P. ovale (+++)	X X
23	F	30	Tronco	P. versicolor	pseudofil. y blast.	X X
24	F	14	C. facial	D. seborreica	P. ovale (++)	X X
25	M	15	C. facial	Z. grasa	P. ovale (+++)	X X

TABLA GENERAL IB
AISLAMIENTO DE
P. ovale

No.	Sexo	Edad	Topografía	Entidad clínica	Tinción de Gram	Fuente de ácidos grasos		
						Oliva	Com.	Mant. Coco
26	M	23	C. facial	D. seborreica	P. ovale (+++)	X		X
27	M	33	C. facial	Z. grasa	P. ovale (++)	X	X	
28	M	14	C. facial	D. seborreica	P. ovale (+)	X		
29	M	13	C. facial	Z. grasa	P. ovale (+++)	X	X	
30	F	19	Tronco	P. versicolor	pseudofli.yblast.	X		X
31	F	19	C. facial	Z. grasa	P. ovale (+++)	X	X	
32	M	20	C. facial	D. seborreica	P. ovale (++)	X	X	X
33	F	29	C. facial	Z. grasa	P. ovale (+)	X		
34	M	18	C. facial	D. seborreica	P. ovale (++)		X	
35	M	18	C. facial	D. seborreica	P. ovale (++)	X	X	X
36	F	24	Tronco	P. versicolor	pseudofli.yblast.	X		X
37	M	19	C. facial	D. seborreica	P. ovale (+++)	X		X
38	M	20	C. facial	D. seborreica	P. ovale (++)	X	X	
39	M	21	C. facial	D. seborreica	P. ovale (+++)	X	X	X
40	M	15	C. facial	Z. grasa	P. ovale (++)	X	X	X
41	M	24	Tronco	P. versicolor	pseudofli.yblast.	X	X	X
42	F	20	C. facial	D. seborreica	P. ovale (+)	X		
43	F	20	C. facial	D. seborreica	P. ovale (++)	X		
44	F	15	C. facial	D. seborreica	P. ovale (+++)	X		X
45	M	20	C. facial	D. seborreica	P. ovale (+++)	X		X
48	M	16	C. facial	D. seborreica	P. ovale (+++)	X		X
47	F	16	Tronco	P. versicolor	Pseudofli.yblast.	X		
48	M	28	C. facial	D. seborreica	P. ovale (+)	X		
49	M	22	Cuello	P. versicolor	Pseudofli.yblast.	X		
50	M	16	C. facial	D. seborreica	P. ovale (+++)	X	X	

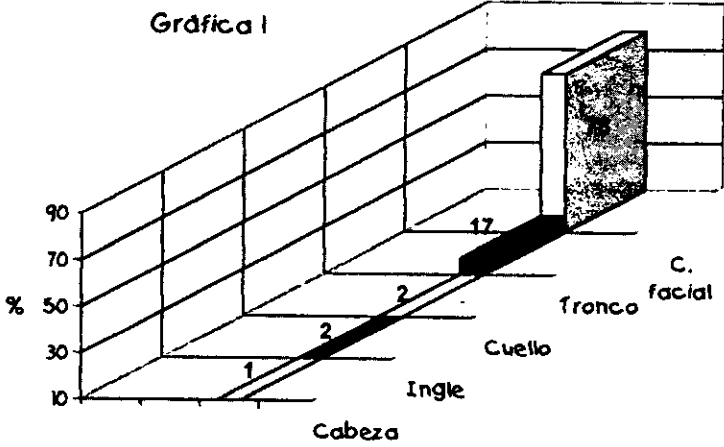
TABLA GENERAL IC
AISLAMIENTO DE
P. ovale

No.	Sexo	Edad	Topografía	Entidad Clínica	Tinción de Gram	Fuente de ácidos grasos
51	F	17	C. facial	Z. grasa	P. ovale (+++)	Olive Com. Mant. X X
52	M	15	C. facial	D. seborreica	P. ovale (++)	X X
53	M	52	Ingle	P. versicolor	Pseudofili.yblast.	X X
54	F	19	C. facial	D. seborreica	P. ovale (+++)	X X
55	M	22	Tronco	P. versicolor	Pseudofili.yblast.	X X
56	F	17	C. facial	D. seborreica	P. ovale (+++)	X X X
57	M	18	C. facial	D. seborreica	P. ovale (++)	X X X
58	M	19	C. facial	D. seborreica	P. ovale (+++)	X X X
59	M	30	C. facial	Z. grasa	P. ovale (++)	X X X
60	M	28	C. facial	Z. grasa	P. ovale (+)	X X X
61	F	17	C. facial	Z. grasa	P. ovale (+++)	X X X
62	M	15	C. facial	Z. grasa	P. ovale (+)	X X X
63	F	27	C. facial	Z. grasa	P. ovale (+)	X X X
64	F	18	C. facial	D. seborreica	P. ovale (++)	X X X
65	F	20	C. facial	D. seborreica	P. ovale (++)	X X X
66	M	18	C. facial	D. seborreica	P. ovale (++)	X X X
67	M	16	C. facial	Z. grasa	P. ovale (+++)	X X X
68	F	19	Tronco	P. versicolor	pseudofili.y blast.	X X X
69	M	27	C. facial	Z. grasa	P. ovale (+)	X X X
70	M	20	Quello	P. versicolor	pseudofili.y blast.	X X X
71	F	21	C. facial	D. seborreica	P. ovale (+)	X X X
72	M	27	C. facial	D. seborreica	P. ovale (+)	X X X
73	M	19	C. facial	D. seborreica	P. ovale (+++)	X X X
74	M	23	C. facial	D. seborreica	P. ovale (++)	X X X
75	F	30	Tronco	P. versicolor	pseudofili.y blast.	X X X

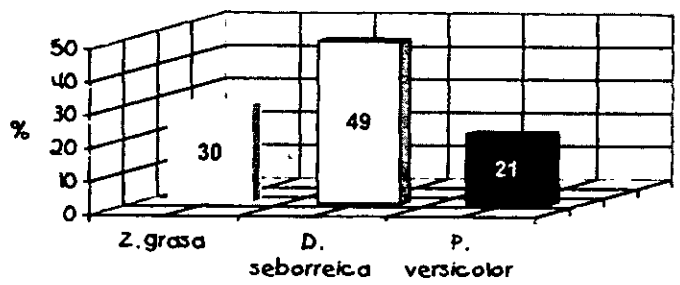
TABLA GENERAL ID
AISLAMIENTO DE
P. ovale

No.	Sexo	Edad	Topografía	Entidad Clínica	Tinción de Gram	Fuente de ácidos grasos Oliva Com. Mant. Coco
76	M	40	Tronco	P. versicolor	pseudofil.yblast.	X
77	F	21	C. facial	D. seborreica	P. ovale (++)	X X
78	M	24	C. facial	D. seborreica	P. ovale (+)	X
79	M	15	C. facial	D. seborreica	P. ovale (+)	X
80	M	39	C. facial	D. seborreica	P. ovale (++)	X
81	M	18	C. facial	D. seborreica	P. ovale (++)	X X X
82	M	15	Tronco	P. versicolor	pseudofil.yblast.	X X
83	M	16	C. facial	D. seborreica	P. ovale (+++)	X
84	M	15	C. facial	D. seborreica	P. ovale (++)	X
85	M	20	C. facial	Z. grasa	P. ovale (++)	X X
86	M	15	C. facial	D. seborreica	P. ovale (+++)	X
87	M	14	C. facial	D. seborreica	P. ovale (+)	X
88	F	29	C. facial	Z. grasa	P. ovale (+)	X X
89	M	22	C. facial	Z. grasa	P. ovale (+)	X X
90	F	15	C. facial	D. seborreica	P. ovale (++)	X X X
91	F	13	C. facial	D. seborreica	P. ovale (++)	X
92	M	14	C. facial	Z. grasa	P. ovale (+++)	X X
93	F	23	Tronco	P. versicolor	pseudofil.yblast.	X X
94	M	25	Tronco	P. versicolor	pseudofil.yblast.	X X X
95	F	13	Tronco	P. versicolor	pseudofil.yblast.	X
96	M	50	Ingle	P. versicolor	pseudofil.yblast.	X
97	M	38	Tronco	P. versicolor	pseudofil.yblast.	X X
98	M	26	C. facial	Z. grasa	P. ovale (+)	X X
99	M	18	C. facial	D. seborreica	P. ovale (++)	X X
100	M	19	C. facial	D. seborreica	P. ovale (+++)	X X X

Topografía general
Aislamientos de *Pityrosporum* sp.



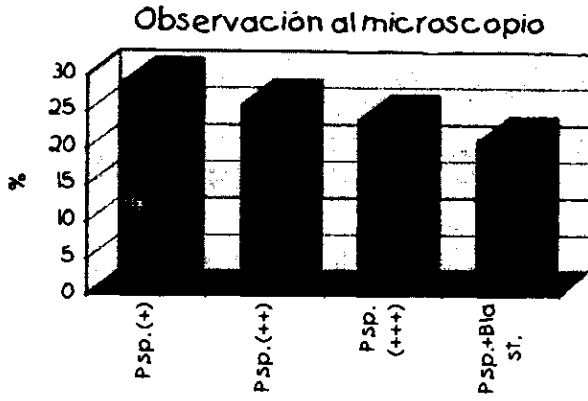
Entidad clínica



Gráfica 2

TABLA 2
Relación entidad clínica y topografía

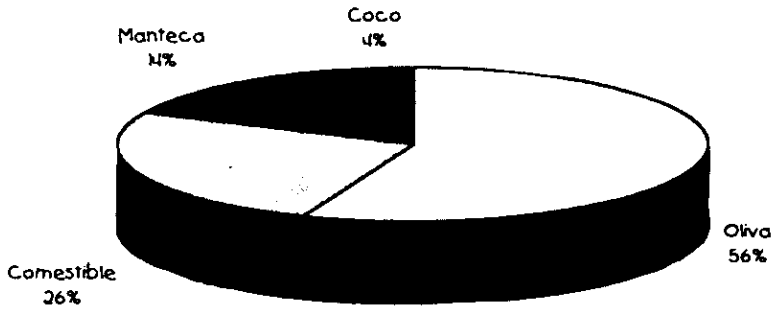
Topografía	Z. grasa	D. seborreica	P. versicolor
C. facial	30	48	0
Cabeza	0	1	0
Tronco	0	0	17
Cuello	0	0	2
Ingle	0	0	2
% Total	30	49	21



P.sp.=Pityrosporum sp.

Gráfica 3

Aislamiento de *Pityrosporum sp.*

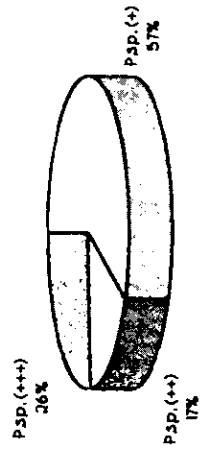


Gráfica 4

TABLA 3
 Relación cuantitativa de *Pityrosporum. sp.*
 con *D.seborreica* y *Z.grasa*

Unidad clínica	P. sp.(+)	P. sp.(++)	P. sp.(+++)
D. seborreica	12	21	16
Z. grasa	17	5	8
Total	29	26	24

Zona grasa



Dermatitis seborreica

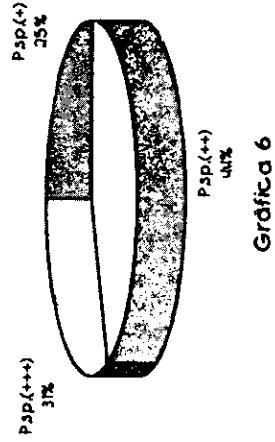


TABLA 4A
PRUEBAS BIQUÍMICAS
Y
FISIOLÓGICAS

RESULTADOS

No.*	Tubo germinativo	T20	T40	T60	T80	Catalasa	Aceite de ricino
1o	+	-	+	-	-	+	-
1c	+	-	+	-	-	+	-
2o	+	-	-	+	-	+	-
2c	-	-	-	+	-	+	-
3o	-	-	+ ^o	-	- ^a	+	-
3m	-	-	+ ^o	-	- ^a	+	-
4o	+	+	+	-	- ^a	+	-
4c	+	+	+	-	- ^a	+	-
5o	+	- ^a	+	+	- ^a	+	-
5c	+	- ^a	-	-	- ^a	+	-
6o	+	-	+ ^o	- ^a	-	+	-
6c	+	-	+ ^o	-	- ^a	+	-
7o	-	-	+	-	-	+	-
8o	-	- ^a	+	+	-	+	-
9o	-	-	-	-	-	+	+
10o	-	- ^a	+	+	-	+	-
11o	-	- ^a	+	+	-	+	-
12o	-	-	-	-	- ^a	+	-
13o	-	-	-	-	- ^a	+	-
13c	-	-	+	+	-	+	-
14o	-	-	+	+	- ^a	+	-
14c	-	-	-	-	-	-	-
14m	-	-	+	+	- ^a	+	-
15o	+	-	+	- ^a	+	+	-
16o	-	-	+	+	- ^a	+	-
16c	-	-	+	-	- ^a	+	-
17o	-	+	+ ^o	+	-	+	-
18o	+	-	+	+	- ^a	+	-
18m	+	-	+	+	- ^a	+	-
18o	-	-	+ ^o	+	- ^a	+	-
19c	-	-	+ ^o	+	- ^a	+	-
19m	-	-	+ ^o	+	- ^a	+	-
20o	-	-	+	+	-	+	-
21o	+	-	-	+	- ^a	+	-
21c	+	-	-	+	- ^a	+	-

TABLA 4B
PRUEBAS BIOQUÍMICAS
Y
FISIOLÓGICAS

RESULTADOS

No.	Tubo germinativo	T20	T40	T60	T80	Catalasa	Aceite de ricino
22o	-	-	+	+	- ^a	+	-
22c	-	-	+	+	- ^a	+	-
23o	-	-	+	+	- ^a	+	-
23c	-	-	+	- ^a	- ^a	+	-
24o	-	+	-	+	-	+	-
25o	+	-	+	+	- ^a	+	-
25c	+	-	+ ^o	- ^a	- ^a	+	-
26o	-	+	+	+	-	+	-
26m	-	-	+	- ^a	- ^a	+	-
27o	-	- ^a	-	+	-	+	-
27c	-	-	+	+	- ^a	+	-
28o	-	-	-	-	-	+	+
29o	-	-	+	+	- ^a	+	-
29c	-	-	+	+	- ^a	+	-
30o	+	-	+	+	- ^a	+	-
30co	+	-	-	-	-	+	-
31o	+	-	+	+	- ^a	+	-
31c	+	-	+ ^o	-	- ^a	+	-
32o	-	-	+ ^o	+	- ^a	+	-
32c	-	-	+ ^o	+	- ^a	+	-
32m	-	-	+ ^o	+	- ^a	+	-
33o	+	-	+	- ^a	+	+	-
34c	-	-	-	+	-	-	-
35c	+	-	+	+	- ^a	+	-
35m	+	-	+	+	- ^a	+	-
36o	+	-	+	+	- ^a	+	-
36co	+	-	-	-	-	+	-
37o	-	-	+ ^o	-	- ^a	+	-
37m	-	-	+ ^o	-	- ^a	+	-
38o	-	-	-	-	- ^a	+	-
38c	-	-	+	+	- ^a	+	-
39o	-	-	+	+	- ^a	+	-
39c	-	-	-	-	-	-	-
39m	-	-	+	+	- ^a	+	-

TABLA 4.C
PRUEBAS BIOQUIMICAS
Y
FISIOLÓGICAS

RESULTADOS

No.º	Tubo germinativo	T20	T40	T60	T80	Catalasa	Aceite de ricino
40o	-	-	+º	-	..º	+	-
40m	-	-	+º	-	..º	+	-
41o	-	-	+	+	..º	+	-
41c	-	-	+º	+	..º	+	-
41m	-	-	+	+	..º	+	-
42o	-	-	+	-	-	+	-
43o	-	+	-	+	-	+	-
44o	-	-	+	+	..º	+	-
44m	-	-	-	-	..º	+	-
45o	-	-	+º	-	..º	+	-
45m	-	-	+º	-	..º	+	-
46co	-	-	+º	-	..º	+	-
47o	+	-	+º	+	..º	+	-
48o	-	-	-	-	..º	+	-
49o	-	+	+º	+	-	+	-
50o	-	-	-	-	..º	+	-
50c	-	-	-	-	..º	+	-
51o	+	-	+	+	-	+	-
51c	+	-	-	-	..º	+	-
52o	-	-	+	+	-	+	-
53o	+	+	+	+	+	+	+
54o	-	..º	+	+	-	+	-
55o	+	+	+	+	+	+	+
56o	-	-	+	+	..º	+	-
56m	-	-	-	-	..º	+	-
57c	+	-	+	+	..º	+	-
57m	+	-	+	+	..º	+	-
58o	-	-	-	-	..º	+	-
58c	-	-	-	-	..º	+	-
59o	-	-	-	+	-	+	-
59c	-	-	+	+	..º	+	-
60o	+	-	+	..º	+	+	-
61o	+	-	+	+	..º	+	-
61c	+	-	+º	-	..º	+	-

TABLA 4.D
PRUEBAS BIÓQUIMICAS
Y
FISIOLÓGICAS

RESULTADOS

No.º	Tubo germinativo	T20	T40	T60	T80	Catalasa	Aceite de ricino
62o	-	- ^a	+	+	-	+	-
63o	+	-	-	+	- ^a	+	-
63c	+	-	-	+	- ^a	+	-
64o	+	-	+	+	- ^a	+	-
64m	+	-	+	+	- ^a	+	-
65o	-	+	-	+	-	+	-
66o	-	-	+ ^o	+	- ^a	+	-
66c	-	-	+ ^o	+	- ^a	+	-
66m	-	-	+ ^o	+	- ^a	+	-
67o	-	-	+	+	- ^a	+	-
67c	-	-	+	+	- ^a	+	-
68o	+	-	+	+	- ^a	+	-
68co	+	-	-	-	-	+	-
69o	+	-	-	+	-	+	-
69c	-	-	-	+	-	+	-
70o	-	+	+ ^o	+	-	+	-
71o	-	-	+	-	-	+	-
72o	-	-	-	-	- ^a	+	-
73o	-	-	+ ^o	-	- ^a	+	-
73m	-	-	+ ^o	-	- ^a	+	-
74o	-	+	+	+	-	+	-
74m	-	-	+	- ^a	- ^a	+	-
75o	-	-	+	+	- ^a	+	-
75c	-	-	+	- ^a	- ^a	+	-
76o	-	+	+ ^o	+	-	+	-
77o	-	-	-	-	- ^a	+	-
77c	-	-	+	+	-	+	-
78o	-	-	-	-	- ^a	+	-
79o	-	-	+	-	-	+	-
80o	-	-	-	-	-	+	+
81o	-	-	+ ^o	+	- ^a	+	-
81c	-	-	+ ^o	+	- ^a	+	-
81m	-	-	+ ^o	+	- ^a	+	-
82o	-	-	+	+	- ^a	+	-
82c	-	-	+	-	- ^a	+	-

TABLA 4E
PRUEBAS BIOQUÍMICAS
Y
FISIOLÓGICAS

RESULTADOS

83co	-	- + ^o - - ^a	+	-
84o	-	- + + -	+	-
85o	-	- + ^o - - ^a	+	-
85m	-	- + ^o - - ^a	+	-
86o	-	- - - -	+	+
86c	+	- + ^o - [*] - ^a	+	-
87o	-	- - - -	+	+
88o	+	- + - ^a +	+	-
88o	+	- + - -	+	-
88c	+	- + - -	+	-
90o	-	- + + - ^a	+	-
90c	-	- - - -	-	-
90m	-	- + + - ^a	+	-
91o	-	+ - + -	+	-
92o	-	- + + - ^a	+	-
92c	-	- + + - ^a	+	-
93o	+	- + + - ^a	+	-
93co	+	- - - -	+	-
94o	-	- + + - ^a	+	-
94c	-	- + ^o + - ^a	+	-
94m	-	- + + - ^a	+	-
95o	+	- + ^o + - ^a	+	-
96o	-	+ + + +	+	+
97o	+	- + ^o - [*] -	+	-
97c	+	- + ^o - - ^a	+	-
98o	+	+ + - - ^a	+	-
98c	+	+ + - - ^a	+	-
98c	-	- - + -	-	-
100o	-	- + ^o - - ^a	+	-
100m	-	- + ^o - - ^a	+	-
o=oliva;c=comestible;m=manteca;co=coco				
^o Precipitación; ^a Halo más grande; [*] Halo más chico.				

TABLA 5
Utilización de carbohidratos en base de asimilación
(Auxonograma)

No. cepa	Glucosa	Maltosa	Sacarosa	Lactosa	Galactosa	Levulosa	Rafinosa	Ureasa	U de N
10	+	+	+	+	+	+	-	+	-
2c	+	+	+	+	+	+	-	+	-
30	+	+	+	+	+	+	-	+	-
4c	+	+	+	+	+	+	-	+	-
6c	+	+	+	+	+	+	-	+	-
90	+	+	+	+	+	+	-	+	-
120	+	+	+	-	+	+	-	+	-
22c	+	+	+	+	+	+	-	+	-
25c	+	+	+	+	+	-	-	+	-
270	+	+	+	+	+	+	-	+	-
27c	+	+	+	+	+	+	-	+	-
280	+	+	+	+	+	+	-	+	-
29c	+	+	+	+	+	+	-	+	-
31c	+	+	+	+	+	-	-	+	-
350	+	+	+	+	+	+	-	+	-
400	+	+	+	+	+	+	-	+	-
420	+	+	+	+	+	+	-	+	-
430	+	+	+	+	+	+	-	+	-
450	+	+	+	+	+	+	-	+	-
480	+	+	+	-	+	+	-	+	-
530	+	+	+	+	+	+	-	+	-
550	+	+	+	+	+	+	-	+	-
590	+	+	+	+	+	+	-	+	-
59c	+	+	+	+	+	+	-	+	-
69c	+	+	+	+	+	+	-	+	-
800	+	+	+	+	+	+	-	+	-
910	+	+	+	+	+	+	-	+	-
97c	+	+	+	+	+	+	-	+	-
98c	+	+	+	+	+	+	-	+	-

Tubo germinativo

n= 168
aislamientos



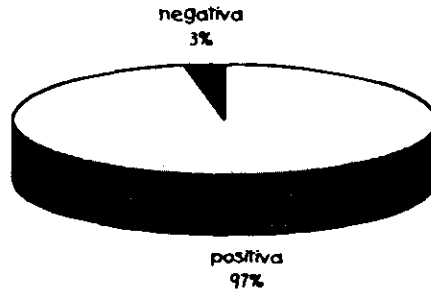
Gráfica 7

TABLA 6
Relación entidad clínica y T. germinativo

T. germinativo	Z. grasa	D. seborreica	P. versicolor	
Positivo	28	9	15	52
Negativo	24	72	20	116

Prueba de catalasa

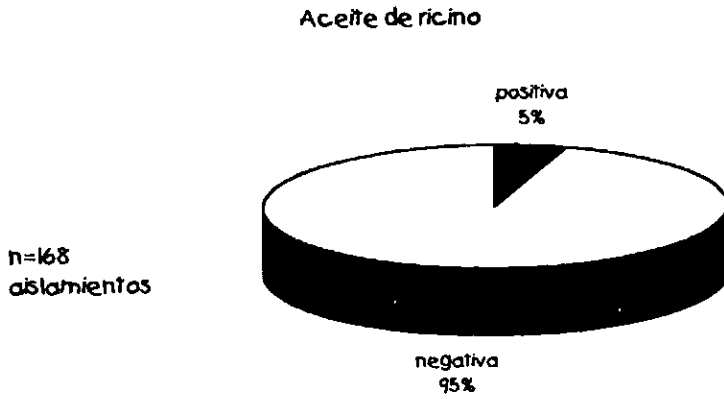
n=168
aislamientos



Gráfica 8

TABLA 7
Relación entidad clínica y pba. de catalasa

Catalasa	Z. grasa	D. seborróica	P. vesicular	
Positiva	52	76	35	163
Negativa	0	5	0	5



Gráfica 9

TABLA 8
Relación entidad clínica y pba. de aceite ricino

Ac. ricino	Z. grasa	D. seborreica	P. versicolor	
Positivo	0	5	3	8
Negativo	52	76	32	160

TABLA 9.1
Aprovechamiento de Tween 40

No cepa	Oliva	Comestible	Manteca	Coco
1	x	x		
3	x		x	
6	x	x		
7	x			
16		x		
23		x		
25		x		
26			x	
31		x		
37	x		x	
40	x		x	
42	x			
45	x		x	
46				x
61		x		
71	x			
73	x		x	
74			x	
75		x		
79	x			
82		x		
83				x
85	x		x	
86		x		
89	x	x		
97	x	x		
100	x		x	

TABLA 9.2
Aprovechamiento de Tween 60

No cepa	Oliva	Comestible	Manteca	Coco
2	x	x		
21	x	x		
27	x			
34		x		
59	x			
63	x	x		
69	x	x		
99		x		

TABLA 9.3
Aprovechamiento de Tween 20 y 40

No. cepa	Oliva	Comestible	Manteca	Coco
4	x	x		
98	x	x		

TABLA 9.4
Aprovechamiento de Tween 40 y 80

No. cepa	Oliva	Comestible	Manteca	Coco
15	x			
33	x			
60	x			
88	x			

TABLA 9.5
Aprovechamiento de Tween 20 y 60

No. cepa	Oliva	Comestible	Manteca	Coco
24	x			
43	x			
65	x			
91	x			

TABLA 96
Aprovechamiento de tween 40 y 60

No. Cepa	Oliva	Comestible	Manteca	Coco
5	x			
8	x			
10	x			
11	x			
13		x		
14	x		x	
16	x			
19	x	x	x	
20	x			
22	x	x		
23	x			
25	x			
27		x		
29	x	x		
30	x			
31	x			
32	x	x	x	
35		x	x	
36	x			
38		x		
39	x		x	
41	x	x	x	
44	x			
47	x			
51	x			
52	x			
54	x			
56	x			
57		x	x	
59		x		
61	x			
62	x			
66	x	x	x	
67	x	x		
68	x			
75	x			
77		x		
81	x	x	x	
82	x			
84	x			
86	x			
90	x		x	
92	x	x		
93	x			
94	x	x	x	
95	x			

TABLA 9.7
Aprovechamiento de Tween 20,40 y 60

No. Cepa	Oliva	Comestible	Manteca	Coco
17	x			
26	x			
49	x			
70	x			
74	x			
76	x			

TABLA 9.8
Aprovechamiento Tween 40,60 y 80

No. Cepa	Oliva	Comestible	Manteca	Coco
18	x		x	
64	x		x	

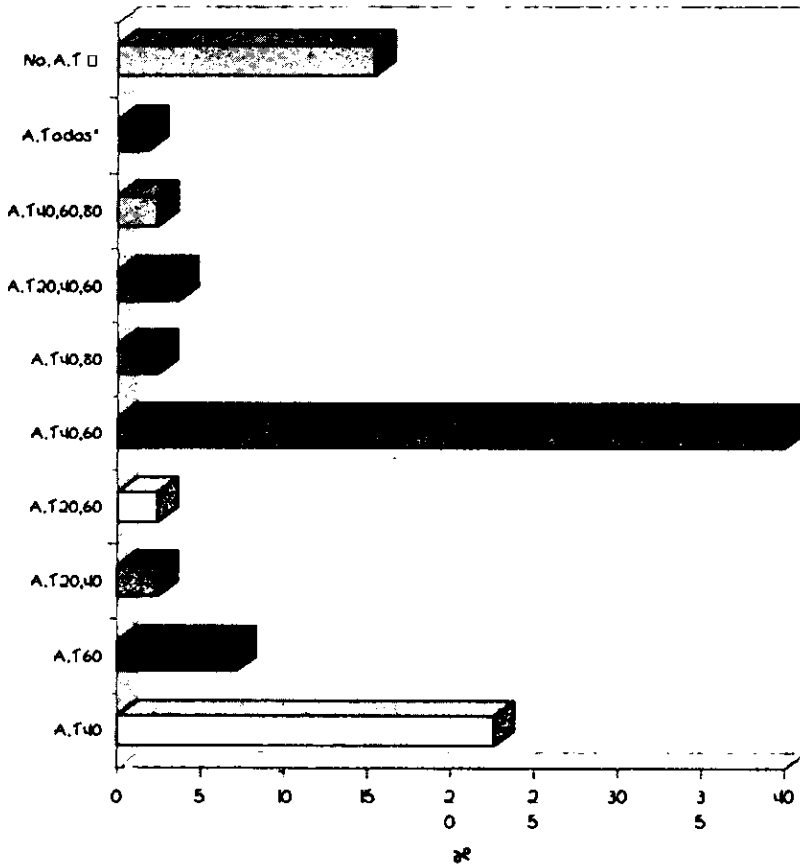
TABLA 9.9
Aprovechamiento Tween 20,40,60 y 80

No. Cepa	Oliva	Comestible	Manteca	Coco
53	x			
55	x			
96	x			

TABLA 9.10
No Aprovechamiento Tween 20,40,60 y 80

No. Cepa	Oliva	Comestible	Manteca	Coco
5		x		
9	x			
12	x			
13	x			
14		x		
28	x			
30				x
36				x
38	x			
39		x		
44			x	
48	x			
50	x	x		
51		x		
56			x	
58	x	x		
68				x
72	x			
77	x			
78	x			
80	x			
87	x			
90		x		
93				x

Aprovechamiento de Tween



A = Aprovechamiento
 * = Aprovechamiento de Tween 20,40,60 y 80
 □ = No Aprovechamiento de Tween 20, 40, 60 y 80

Gráfica 10

TABLA DA
MORFOLOGÍA DE *Pityrasporum* sp.

No. cepa	<i>P. furfur</i>	<i>P. globosa</i>	<i>P. restricta</i>	<i>P. obtusa</i>
1	x		x	
2	x	x		x
3	x	x		
4	x	x	x	
5	x	x	x	
6	x	x	x	
7	x	x		
8	x	x		
9	x	x		
10	x	x		
11	x	x		
12	x	x		
13	x	x	x	
14	x	x	x	
15	x	x		
16	x	x		
17	x	x		
18	x	x		
19	x	x		
20	x	x		
21	x	x	x	
22	x	x		
23	x	x		
24	x	x		
25	x	x		x
20	x	x		
21	x	x	x	
22	x	x		
23	x	x		
24	x	x		
25	x	x		x

TABLA 10B
MORFOLOGÍA DE *Pityrasporum* sp.

No. cepa	<i>P. furfur</i>	<i>P. globosa</i>	<i>P. restricta</i>	<i>P. obtusa</i>
26	x	x		
27	x	x	x	
28	x	x		
29	x	x		
30	x	x		x
31	x	x		x
32	x	x		
33	x	x		
34	x	x	x	
35	x	x		
36	x	x		x
37	x	x		
38	x	x	x	
39	x	x	x	
40	x	x		
41	x	x		
42	x	x		
43	x	x		
44	x	x		
45	x	x		
46	x	x		x
47	x	x		
48	x	x		
49	x	x		
50	x	x		

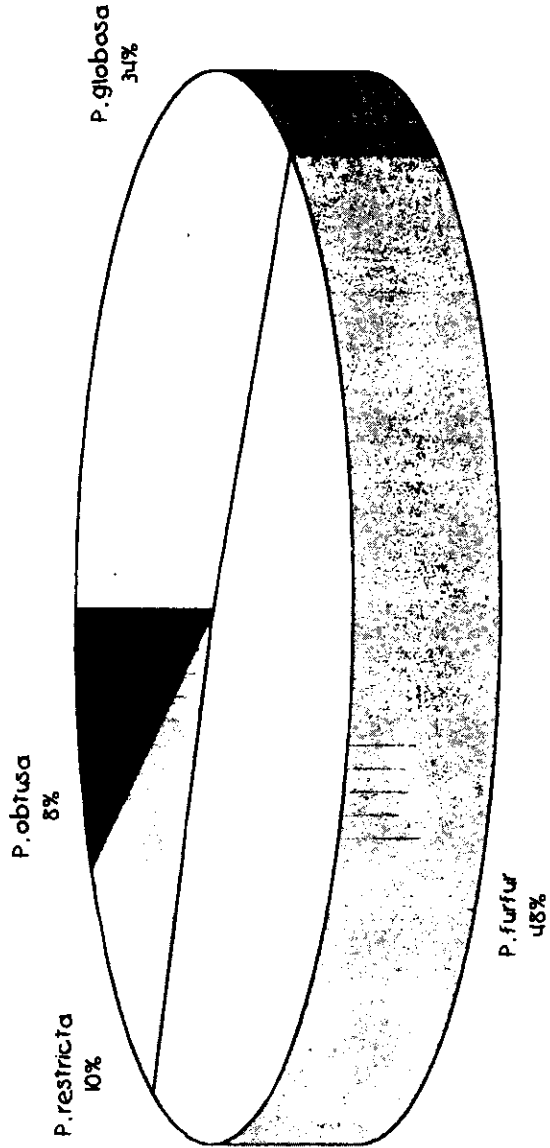
TABLA 10.C
MORFOLOGÍA DE *Pityrasporum* sp.

No. cepa	<i>P. furfur</i>	<i>P. globosa</i>	<i>P. restricta</i>	<i>P. obtusa</i>
51	x	x	x	
52	x			x
53				x
54	x			
55				x
56	x	x		
57	x	x		
58	x	x		
59	x	x	x	
60	x	x		
61	x	x		x
62	x	x		
63	x	x	x	
64	x	x		
65	x	x		
66	x	x		
67	x	x		
68	x	x		x
69	x	x		x
70	x	x		
71	x	x		
72	x	x		
73	x	x		
74	x	x		
75	x	x		

TABLA 10.D
MORFOLOGÍA DE *Pityrosporum* sp.

No. cepa	<i>P. furfur</i>	<i>P. globosa</i>	<i>P. restricta</i>	<i>P. obtusa</i>
76	x	x		
77	x	x	x	
78	x	x		
79	x	x		
80	x	x		
81	x	x		
82	x	x		
83	x	x		x
84	x			x
85	x	x		
86	x	x		x
87	x	x		
88	x	x		
89	x		x	
90	x	x	x	
91	x	x		
92	x	x		
93	x	x		x
94	x	x		
95	x	x		
96				x
97	x	x	x	
98	x	x	x	
99	x	x	x	
100	x	x		

Clasificación morfológica
de las especies de *Pityrasporium*



TABLAS COMPARATIVAS
Desarrollo de *Pityrosporum sp.* y morfología

TABLA 12.1
Aprovechamiento T40
P. globosa y *P. furfur*

No. cepa	Oliva	Comestible	Manteca	Coco
3	x		x	
7	x			
16		x		
23		x		
26			x	
37	x		x	
40	x		x	
42	x			
45	x		x	
71	x			
73	x		x	
74			x	
75		x		
79	x			
82		x		
85	x		x	
100	x		x	

TABLA 12.2
Aprovechamiento Tween 40
P. globosa, *P. furfur* y *P. obtusa*

No. cepa	Oliva	Comestible	Manteca	Coco
25		x		
31		x		
46				x
61		x		
83				x
86		x		

TABLA 123
Aprovechamiento T40 y T60
P. globosa, P. furfur y P. restricta

No. cepa	Oliva	Comestible	Manteca	Coco
5	x			
13		x		
14	x		x	
27		x		
38		x		
39	x		x	
51	x			
59		x		
77		x		
90	x		x	

TABLA 124
Aprovechamiento T40 y T60
P. globosa, P. furfur y P. obtusa

No. cepa	Oliva	Comestible	Manteca	Coco
25	x			
30	x			
31	x			
36	x			
61	x			
68	x			
86	x			
93	x			

TABLA 125
Asimilación de T40 y T60
P. globosa y *P. furfur*

No. cepa	Oliva	Comestible	Manteca	Coco
8	x			
10	x			
11	x			
16	x			
19	x	x	x	
20	x			
22	x	x		
23	x			
29	x	x		
32	x	x	x	
35		x	x	
41	x	x	x	
44	x			
47	x			
54	x			
56	x			
57		x	x	
62	x			
66	x	x	x	
67	x	x		
75	x			
81	x	x	x	
82	x			
92	x	x		
94	x	x	x	
95	x			

TABLA 126
No aprovechamiento de Tween
P. globosa y *P. furfur*

No. cepa	Oliva	Comestible	Manteca	Coco
9	x			
12	x			
28	x			
44			x	
48	x			
50	x	x		
56			x	
58	x	x		
72	x			
78	x			
80	x			
87	x			

TABLA 12.7
SIN SIMILITUD EN DESARROLLO Y MORFOLOGIA

No. cepa	Oliva	Comestible	Manteca	Coco
1	x	x		
2	x	x		
4	x	x		
5		x		
6	x	x		
13	x			
14		x		
15	x			
17	x			
18	x		x	
21	x	x		
24	x			
26	x			
27	x			
30				x
33	x			
34		x		
36				x
38	x			
39		x		
43	x			
49	x			
51		x		
52	x			
53	x			
55	x			
59	x			
60	x			
63	x	x		
64	x		x	
65	x			
68				x
69	x	x		
70	x			
74	x			
76	x			
77	x			
84	x			
88	x			
89	x	x		
90		x		
91	x			
93				x
96	x			
97	x	x		
98	x	x		
99		x		



DISCUSSION

□ DISCUSION

El aislamiento de *Pityrosporum sp.* fue a partir de muestras clínicas de individuos sanos y pacientes con algunas de las entidades relacionadas a este hongo (pitiriasis versicolor y dermatitis seborreica), la mayoría de los aislamientos fueron de pacientes con dermatitis seborreica (49%) como se ilustra en la gráfica y tabla 2, de la zona centro facial con un 78% en relación con las otras topografías, como se observa en la gráfica 1, de los individuos incluidos en el estudio. Esto se debe a que los pacientes con pitiriasis versicolor fueron el menor número.

El crecimiento de *Pityrosporum sp.* fue muy variado, hubo algunas que crecieron más rápido, las cepas sembradas a partir de pacientes con pitiriasis versicolor desarrollaron de 8 a 15 días, mientras que de individuos sanos tardaron más en crecer (hasta 30 días) que los comparados con pitiriasis versicolor y dermatitis seborreica; la posible explicación es que los individuos sanos tienen menor flora de *Pityrosporum sp.* y que las diferentes especies metabolizan distinto los ácidos grasos tardando en desarrollar unas especies más que otras. (41)

En cuanto a las características macroscópicas, las cepas desarrollaron colonias sin borde definido (debido a que los diferentes ácidos grasos utilizados se dispersaron en todo el medio) de color blanco a amarillentas. Es importante remarcar que no se pueden obtener características que definan a cada una de las especies de *Pityrosporum*.

La observación microscópica de las muestras clínicas en general (gráfica 3) resultó ser mayor para *Pityrosporum sp.(+)* con un 29% (menor número de microorganismos por campo), de los cuales el 41% fue a partir de pacientes con dermatitis seborreica y el 59% de la zona grasa (gráfica 5 y 6) como se ilustra en la tabla 3. El menor número de aislamientos fueron de pacientes con pitiriasis versicolor.

En cuanto a la relación observación al microscopio de *Pityrosporum ovale* de la zona grasa y dermatitis seborreica a partir de las muestras se obtuvo que de 24% (gráfica 3) del total de los aislamientos, en la dermatitis seborreica se observó una mayor colonización saprófita (*Pityrosporum sp. (+++)*) resultado que se esperaba debido a que esta entidad clínica está relacionada directamente en el aumento de la levadura, aunque no se sabe si como agente etiológico o como flora asociada a este proceso. (tabla 3, gráficas 5 y 6).

En las tablas 1 A-D se observan los aislamientos de *Pityrosporum sp.* de la población en estudio, a partir de las diferentes fuentes de ácidos grasos, de donde el mejor desarrollo se obtuvo del medio adicionado con aceite de oliva (56%) y menor con aceite de coco (4%). Se esperaba un mejor resultado con la manteca de cerdo (14%) ya que ésta tiene una composición similar a la grasa del cuerpo humano. Probablemente se debe a que el ácido oleico sea una fuente más directa y fácil de degradar. Gráfica 4.

De las tablas 4 A-E de pruebas bioquímicas y fisiológicas se tiene que de el total de aislamientos (n=168) para tubo germinativo solo el 31% fue positivo (gráfica 7) de los cuales el mayor número fue apartir de la zona grasa (tabla 6).Para las pruebas de catalasa el 97% resultó positiva (gráfica 8) y consideramos una prueba útil que nos orienta a la clasificación de *Pityrosporum restricta* y de aceite de ricino resultó prueba negativa con un 95% (gráfica 9); ambas pruebas en su mayoría a partir de individuos con dermatitis seborreica (tablas 7 y 8).

El auxonograma no se realizó a todas a todas las cepas, ya que solo se contaba con 27 activas en el momento de realizar la prueba de Micro-Scan; casi todas las cepas dieron el mismo el mismo perfil bioquímico, con excepción de las cepas 25 y 31 comestible que resultó negativa la levulosa y las cepas 48 y 12 de oliva que dieron negativa la lactosa. (tabla 5). Es importante citar que es una prueba útil, pero que debe hacerse solamente con cepas recién aisladas.

La identificación de la reciente clasificación de las 7 especies de *Pityrosporum sp.* se basa entre otras pruebas en la asimilación de diferentes tensoactivos tipo Tween.

(19)

Los resultados que se obtuvieron no coinciden con los reportados en la bibliografía, en las tablas 9.1 a 9.10 se tiene el comportamiento de las cepas con los diferentes Tween (20, 40, 60 y 80); la mayoría asimilaron los Tween 40 y 60 (40%).

Una posible explicación es que no se trabajó con cepas puras, como se comprueba en las tablas 10 A-D y se visualiza en la gráfica 12.; el factor racial también pudo haber influido en el comportamiento de las cepas. La purificación entre las cepas es muy complicada por los métodos tradicionales.

Otra situación importante de mencionar es que algunas de las cepas que desarrollaron en los medios con diferentes fuentes de ácidos grasos, tuvieron un comportamiento diferente en la asimilación de los diferentes tensoactivos tipo Tween, a pesar de que provenían del mismo individuo. (Tablas 9.1 a 9.10). Lo anterior debido quizás a que en el momento del inóculo y teniendo una mezcla de especies, se tomó de diferentes sitios del cultivo para las diferentes pruebas, predominando en cantidad una especie sobre otra.

Por lo anterior no es posible hacer una clasificación confiable del género *Malassezia* únicamente con las pruebas realizadas en el estudio, sin embargo, nos queda claro que existen varias especies con diferencias micromorfológicas y bioquímicas, por lo tanto en nuestro trabajo se hizo una relación solamente subjetiva de topografía-morfología donde en la zona centro facial se observó en la mayoría de las cepas a *P. globosa* y *P. furfur* y en menor número a *P. obtusa* y *P. restricta* (aunque mayor en relación con las otras topografías), es decir el 77% total. (Tabla 11).

DISCUSION

La clasificación anterior se hizo en base a la morfología, asimilación de los diferentes Tween y prueba de catalasa. (Donde la única especie que resulta negativa es *P. restricta*, únicamente se comprobó su presencia con la morfología y con la prueba).



CONCLUSIONES

□ CONCLUSIONES

✳ Se obtuvo un mayor aislamiento de *Pityrosporum sp.* de las entidades relacionadas a éste (pitiriasis versicolor y dermatitis seborreica, etc.), confirmando que se encuentra en mayor número que en individuos sanos. La topografía de donde se aisló a la levadura fue principalmente de la zonas centro facial y tronco, sitios donde actúan principalmente las glándulas sebáceas.

✳ Las especies del género *Pityrosporum* muestran diferencias en el tiempo de desarrollo, lo que podría indicar que la misma fuente de ácidos grasos es metabolizada diferente por las levaduras. Esto puede ser importante en la patogénesis de las entidades relacionadas a *Pityrosporum sp.*

✳ La mejor fuente de ácidos grasos para el aislamiento de *Pityrosporum sp.* es el aceite de oliva, sin embargo el aceite comestible es otra buena opción.

✳ La observación al microscopio y las pruebas fisiológicas y bioquímicas realizadas en este trabajo demuestran el diferente comportamiento del género *Pityrosporum* comparado con otros lugares; sin embargo nos podría ayudar a proponer una nueva clasificación para nuestra población. Se necesitan de otras pruebas más específicas

CONCLUSIONES

para su confirmación como la secuencia de DNA y rRNA, así como pruebas bioquímicas y fisiológicas más precisas.

• Recientemente se ha reclasificado al género *Pityrosporum* como *Malassezia* además de identificarse siete especies para este género.



APENDICE

□ APÉNDICE

☞ MATERIAL

- ☞ Algodón
- ☞ Anillo metálico
- ☞ Asa bacteriológica
- ☞ Asa micológica
- ☞ Bombilla de plástico
- ☞ Cajas de Petri
- ☞ Cubreobjetos
- ☞ Embudo de vidrio de tallo largo
- ☞ Etiquetas
- ☞ Gradilla metálica
- ☞ Matraz Erlenmeyer de 250 mL
- ☞ Mechero de Bunsen
- ☞ Pinzas de Möhr
- ☞ Pipetas de 1,5, 10 mL
- ☞ Pipetas Pasteur
- ☞ Portaobjetos
- ☞ Probetas de 100 y 500 mL
- ☞ Sensidiscos

- Soporte universal
- Tela de asbesto
- Tubos de ensaye 12x75 con tapón de rosca
- Tubos de ensaye de 13x150
- Vasos de precipitado de 50,100,250 mL.

☞ MEDIOS DE CULTIVO

- Micosel agar

☞ EQUIPO

- Autoclave
- Balanza granataria
- Estufa
- Incubadora
- Microscópio óptico
- Refrigerador

REACTIVOS

- Aceite comestible
- Aceite de coco
- Aceite de inmersión
- Aceite de oliva
- Aceite de ricino
- Agua destilada
- Alcohol acetona
- Azul "Parker"
- Bálsamo de canada
- Cloramfenicol
- Cloro
- Cristal violeta
- Lugol
- Manteca de cerdo
- Peróxido de hidrógeno al 30%
- Safranina
- Suero humano
- Tensoactivos tipo Tween 20,40,60 y 80



BIBLIOGRAFIA

□ BIBLIOGRAFIA

1. Faergemann J. *Pityrosporum infections*. J Am. Acad Dermatol 1994,31:Suppl 18-20.
2. Saúl A. *Lecciones de Dermatología*. Edit. Méndez editores. 13ª ed. México 1998.
Pp. 196-197,356-357.
3. Grigoriu D. *Medical Mycology*. Ediciones Roche Scientific Service; Suiza 1987.
Pp..177-187.
4. Mervyn L. *Clínicas Dermatológicas*. Mc. Graw-Hill Interamericana. Vol. 1. México 1996.
Pp. 59-64.
5. Terragni L., Lasagni A., Oriani A., et al. *Pityriasis versicolor in the pediatric-age*
Pediatric Dermatol 1991,8:9-12.
6. Bergbrant IM, Broberg A. *Pityrosporum ovale culture from the forehead of healthy children*. Acta Derm Venereol 1994,74(4):260-261.
7. Arti N., Surrinde K., Omkar N., et al. *Pityriasis (Tinea) Versicolor in infancy*. Pediatric Dermatology. 1988. Vol. 5. No 4:260-262.

8. Salcedo N. *Cultures and physiologic properties of the fungus producing tinea versicolor*. PAHO. Washington, D.C 1980;396:44-54.
9. Bonifaz A. *Micología Médica Básica*. Méndez-Cervantes edit. México, D.F. 1990. Pp. 91-100, 327-331.
10. Borelli D. *Pityriasis versicolor: Unicity or duality?*. Mycopathologia 1990, 111:3-4
11. Arenas R. *Dermatología Atlas. Diagnóstico y tratamiento*. Mc Graw Hill Interamericana Editores. México D.F 1996. Pp. 21-23, 46-47.
12. Silva HM. *Malassezia furfur as pathogen and in culture: a review*. PAHO. Washington D.C 1980;396:29-37.
13. Ingham E., Cunningham C. *Malassezia furfur*. J Med Veter Mycol 1993;31:265-288.
14. Dorn M. y Roehnert K. *Dimorphism of pityrosporum orbiculare in a defined culture-medium*. J Invest Dermatol 1977, 69:244-248.
15. Bhattacharyya Y., Edward M., Cordery C., et al. *Colonization of living skin equivalents by Malassezia furfur*. Med Mycol 1998, 36:15-19.

16. Faergemann J. and fredricksson T. *Experimental Infections in Rabbits and Humans with *P. orbiculare* and *P. ovale**. J of Invest Dermatol 1981,77:314-318.
17. Tanaka M. and Imamura S. *Immunological Studies on *Pityrosporum* genus and *Malassezia furfur**. J of Invest Dermatol 1979,73:321-324.
18. Faergemann J., Tjermund V., Scheynius A., et al. *Antigenic similarities and differences in Genus *Pityrosporum**. J of Invest Dermatol 1982,78:28-31.
19. Guillot J., Guého E., Lesourd M., et al. *Identification of *Malassezia* species*. J Mycol. Med. 1996,6:103-110.
20. Guillot J., Chermette R., Guého E. *Prévalence du genre *Malassezia* chez les mammifères*. J Mycol Méd. 1994,4:72-79.
21. Guillot J., Chermette R., Guého E. *Confirmation of the nomenclatural status of *Malassezia pachydermatis**. Antonie van Leeuwenhoek 1995,67:173-176.
22. Guillot J., Chermette R., Guého E. *Epidemiological analysis of *M. pachydermatis* isolates by partial sequencing of the large subunit ribosomal RNA*. Research in Veterinary Science 1997,62,22-25.

23. Marples R., Downing D., Kligman A. *Influence of Pityrosporum species in the generation of free fatty acids in human surface lipids.* J Invest Dermatol 1972,58:155-158.
24. Nazzaro D.M., Passi S., Caprill F., et al. *Growth requirements and lipid Metabolism of Pityrosporum orbiculare.* J Invest Dermatol 1976,66:178-182.
25. Galadaryl, Komy E.M., Mousa A., et al. *Tinea versicolor: Histologic and ultrastructural investigation of pigmentary changes.* Int J of Dermatol 1992,31(4);253-256.
26. Dotz I.W., Henrikson M.D., Yu S.M., et al. *Tinea versicolor: A light and electron microscopic study of hyperpigmented skin.* J Am Acad Dermatol 1985,12:37-44..
27. Charles R., Sire D.J., Bennett L., et al. *Hipopigmentation in Tinea Versicolor: a Histochemical and Electronmicroscopic Study.* Int J of Dermatol 1973;12:48-58.
28. Faergemann J., Jones J.C., Hettler O., et al. *P. ovale (M. furfur) as the causative agent of seborrheic dermatitis; new treatment options.* Br J Dermatol 1996;134 Suppl 46: 12-15.
29. Civilia E.S., Vignale R.A and Conti-Díaz I.A. *Malassezia ovalis. Mycologic and immuno-antigenic aspects and probable pathogenic role.* Fifth Internacional conference on the mycoses, Venezuela 1980.

30. Kieffer M., Bergbrant I.M., Faergemann J., et al. *Immune reactions to *Pityrosporum ovale* in adult patients with atopic and seborrheic dermatitis.* J Am Acad Dermatol 1990;22:739-742.
31. Groisser D., Bottone E.J. and M. Lebowitz. *Association of *P. orbiculare* (*M. furfur*) with seborrheic dermatitis in patients with acquired immunodeficiency syndrome (AIDS).* J Am Acad Dermatol 1989;20:770-773.
32. Gould D.J., Mortimer P.S., Strong M., et al. *A double-blind, placebo-controlled, multicenter trial of lithium succinate ointment in the treatment of seborrheic dermatitis.* J Am Acad Dermatol 1992;26:452-457.
33. Orozco T. y Arenas R. **Pityrosporum ovale* en dermatitis seborreica.* Dermatología Rev Mex 1995;39(6):343-346.
34. Hurwitz S. *Clinical Pediatric Dermatology.* W.B Saunders Company, 2ª ed., USA 1993.
35. Bäck O., Faergemann J. and Hörnqvist R. **Pityrosporum folliculitis*: A common disease of the young and middle-age.* J Am Acad Dermatol 1985;12:56-61.

36. Faergemann J., Johansson S., Bäck O., et al. *An immunologic and cultural study of P. folliculitis.* J Am Acad Dermatol 1986,14:429-433.
37. Ford G.P., Ivey F.A. and Midgley G. *Pityrosporum folliculitis and ketoconazole.* Br J Dermatol 1982,107:691-95.
38. Rokugo M., Tagami H., Usuba Y., et al. *Contact sensitivity to Pityrosporum ovale in Patients with Atopic Dermatitis.* Arch Dermatol 1990;126:627-632.
39. Guého E., Faergemann J., Lyman C., et al. *Malassezia and Trichosporon: Two emerging pathogenic basidiomycetous yeast-like fungi.* J Med Veter Mycol 1994,32, Suppl 1, 367-378.
40. Padilha G. *A Single Method to Stain Malassezia furfur and Corynebacterium minutissimum in Scales.* Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo 1996,38(4):299-302.
41. Mayer P., Pickel M., Haze P., et al. *Different utilization of neutral lipids by Malassezia furfur and Malassezia sympodialis.* Med Mycol 1998,36:7-14.
42. Pine S. *Química Orgánica.* Mc Graw Hill. 4ª edición. México 1988. Pp. 369.

43. Koneman R. *Micología*. Médica Panamericana. 3ª edición. Argentina, 1987. Pp. 77-81.
44. Koneman E. *Diagnóstico Microbiológico*. Médica Panamericana. 3ª ed. México, 1991. Pp. 292, 455.
45. Guého E., Midgley G. and Guillot J. *The genus Malassezia with description of four new species*. *Antonie van Leeuwenhoek* 1996, 69: 337-335.
46. Mayser P., Papavassilis C., et al. *Differentiation of Malassezia species: selectivity of Cremophor EL, castor oil and ricinoleic acid for Malassezia furfur*. *Br J Dermatol* 1997; 137: 208-213.
47. Guillot J. and Guého E. *The diversity of Malassezia yeasts confirmed by rRNA sequence and nuclear DNA comparisons*. *Antonie van Leewenhoek* 1995, 67: 297-314
48. Arenas R. *Micología Médica*. Edit. Mc Graw-Hill. 1ª ed. México 1993. Pp. 5, 48, 77-83.