

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

SECRETARÍA DE SALUD DEL DISTRITO FEDERAL

DIRECCIÓN DE EDUCACIÓN E INVESTIGACIÓN

SUBDIRECCIÓN DE POSGRADO E INVESTIGACION

CENTRO DERMATOLÓGICO “DR. LADISLAO DE LA PASCUA”

**CURSO UNIVERSITARIO DE ESPECIALIZACIÓN EN
DERMATOLOGÍA**

**AISLAMIENTO Y TIPIFICACIÓN DE ESPECIES DE *MALASSEZIA*
EN PACIENTES ADULTOS CON DERMATITIS SEBORREICA
FACIAL VS SANOS**

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

CLINICA



**PRESENTADO POR: DR. JOSE ANGEL MARTINEZ MUÑOZ
PARA OBTENER EL DIPLOMA DE ESPECIALISTA EN DERMATOLOGÍA**

**DIRECTORES DE TESIS: DRA. MARIA DEL CARMEN PADILLA DESGARENNES
MC. MA. LUISA PERALTA PEDRERO**



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.

**Aislamiento y Tipificación de Especies de *Malassezia* en
pacientes adultos con dermatitis seborreica facial vs sanos**

Dr. José Ángel Martínez Muñoz

Vo. Bo.

Dr. Fermín Jurado Santa Cruz

**Profesor Titular del Curso de Especialización
en Dermatología**

Vo. Bo.

Dr. Antonio Fraga Mouret

Director de Educación e Investigación

**Aislamiento y Tipificación de Especies de *Malassezia* en
pacientes adultos con dermatitis seborreica facial vs sanos**

Dr. José Ángel Martínez Muñoz

Vo. Bo.

**Dra. Ma. del Carmen Padilla Desgarenes
Jefa del Servicio de Micología del CDP**

Vo. Bo.

**Dr. Daniel Alcalá Pérez
Jefe de Enseñanza e Investigación**

INDICE

Antecedentes

Definición	3
Sinonimia	3
Historia	4
Epidemiología	6
Etiopatogenia	6
Factor Genético	7
Factor Hormonal	7
Factores Psicológicos	8
Factores Dietéticos	9
Factor Ambiental	9
Factor Infeccioso	10

Fisiopatología

Seborrea	11
Papel de <i>Malassezia</i>	12

Cuadro Clínico

Costra de leche	13
Dermatitis seborreica infantil	14
Seudotiña amiantácea de Alibert	14
Eritrodermia descamativa o enfermedad de Leiner Moussos	14
Dermatitis seborreica del adulto	15
Dermatitis seborreica facial	15
Blefaritis marginal	17
Eccematides seborreicas mediotoracicas de Brocq	17
Dermatitis seborreica intertriginosa	18

Diagnóstico

El estudio micológico	18
Histopatología	18
Diagnóstico diferencial	19
Enfermedades asociadas	19

Pronóstico	20
Tratamiento	20
<i>Malassezia spp</i>	21
<i>Malassezia pachydermatis</i>	27
<i>Malassezia furfur</i>	30
<i>Malassezia globosa</i>	33
<i>Malassezia restricta</i>	36
<i>Malassezia japonica</i>	40
<i>Malassezia nana</i>	41
<i>Malassezia yamatoensis</i>	42
Clasificación taxonómica	47
Estudio micológico	48
Cultivo	51
Malassezia como parte de microbiota cutánea	53
Malassezia sp como patógeno	57
Protocolo de estudio	
Justificación	59
Hipótesis:	60
Objetivo general	60
Material y métodos	61
Metodología	62
Criterios de inclusión	65
Criterios de exclusión	66
Definición de variables	66
Plan de análisis	69
Resultados	70
Conclusiones	82
Comentarios	84
Anexos	86
Bibliografía	90

ANTECEDENTES:

Definición:

La dermatitis seborreica (DS) es una dermatosis eritematoescamosa que se caracteriza por placas oleosas de color amarillento de tamaño y formas variables, de evolución crónica y recurrente, que afecta niños y adultos; Se localiza en la piel cabelluda, cara, regiones esternal e interescapular y pliegues. De origen desconocido, se considera multifactorial y es posible que intervengan factores genéticos, infecciosos, hormonales, dietéticos, ambientales y emocionales. ⁽¹⁾

La dermatitis seborreica es una entidad común que varía en severidad entre los individuos afectados. Algunos investigadores postulan un componente inmunológico de la dermatitis seborreica y proponen que esta enfermedad es causada por una respuesta inmune a la levadura del género *Malassezia*. Sin embargo, otros ven a esta enfermedad como el resultado de la secreción excesiva de sebo en la piel. ⁽²⁾

Sinonimia:

Eccema seborreico, eccema peripapilar, eccema intertriginoso de la piel cabelluda, eccema microbiano, eccema flaneral, pitiriasis simple, pitiriasis sicca, pitiriasis esteatoide y corona seborreica.

Historia:

En 1810 Fush fue el primero que utilizó el termino seborreica, para identificar esta dermatosis; Jean Louis Alibert también la identifico en 1820.

En 1870 Von Hebra introdujo el término de seborrea-oleosa.

En 1874 el micólogo francés Malassez inicia la investigación del *Pityrosporum* y determina que este microorganismo es la causa de la pitiriasis capitis. En 1887 Paul Unna describe la dermatosis con el nombre de eccema seborreico, considera que la seborrea es una verdadera dishidrosis, enfatiza el componente inflamatorio, relaciona el estado graso de la piel cabelluda con la pitiriasis capitis, señala también localizaciones, en axilas, tronco y extremidades superiores y afirma que la causa de la enfermedad es por un coco que posteriormente sería identificado como un *Estafilococo*, distingue como variedades clínicas el eccema de la dentición, el tuberculoso y el seborreico; Al eccema de la dentición que afecta la cara también le llamó facial infantil, el tuberculoso comprende a lupus tuberculoso de la cara y reserva el término seborreico para el localizado a la piel cabelluda, principalmente en la implantación de ésta.

En 1902 Sabouraud manifiesta la importancia de la interrelación de las formas clínicas como la pitiriasis capitis, acné, eccema seborreico y alopecia seborreica, enfatizando que estos estados de la piel coinciden con la pubertad. Menciona también a la pitiriasis esteatoide, como un estado más severo que la pitiriasis simple.

En 1907 es Darier introdujo el concepto de predisposición o enfermedad constitucional, probablemente de naturaleza endocrina.

En 1922 Barber fue el primero que le dio importancia a la dieta como causa etiológica de esta dermatosis. La relaciona con una difícil digestión de los carbohidratos, insuficiencia hepática, ingestión abundante de frutas frescas, ejercicio y anemia.

En 1931 Ingram, involucra en el origen de esta entidad, hipersensibilidad a irritantes, inestabilidad vasomotora y susceptibilidad a las infecciones, sustentando un factor endocrino evidente. Este mismo autor en 1939 consideró la presencia de un foco séptico como génesis de la enfermedad.

En 1936, Dowhng postuló que el eccema seborreico está causado por microorganismos, y afirmó que las eccematides se observan frecuentemente en pacientes seborreicos.

En 1940, Avit Scott incluyó a las pápulas y a las pústulas del acné, como parte de las lesiones de la dermatitis seborreica. Fue el primero que describió la blefaritis seborreica.

En 1950 Cobur clasificó a las dermatitis seborreicas inflamatorias con base en la respuesta vascular.

Hasta el momento actual existe diversas hipótesis con respecto a la etiología de la dermatitis seborreica. Una de ellas considera a la levadura del género *Malassezia* como agente etiológico. ^(3,4,5,6,7)

Epidemiología:

Es una enfermedad cosmopolita, frecuente en Europa y América; no hay predilección por género y edad; en adultos predomina en varones; se presenta hasta en el 6 % de la consulta dermatológica; en recién nacidos la frecuencia es del 12%; ocupa el tercer lugar entre las enfermedades propias del primer mes de vida; Se observa hasta en el 80% de los pacientes con Síndrome de inmunodeficiencia adquirida.

Etiopatogenia:

En recién nacidos la piel es oleosa en áreas seborreicas, debido a la hiperplasia de glándulas sebáceas, como consecuencia de la influencia hormonal de la madre durante la vida fetal. Fuera de este fenómeno transitorio se desconoce la causa.

Se proponen factores predisponentes tales como: genéticos, dietéticos, emocionales, atópicos, neurológicos, endocrinos, alimentarios, farmacológicos, infecciosos, sedentarismo, estrés y alcoholismo entre otros. La frecuencia aumenta con la desnutrición; y se ha relacionado con deficiencia de biotina y de ácidos grasos esenciales. ^(7, 8)

Factor Genético:

Huwirtz Glorr están de acuerdo con el factor genético como parte de la etiología; Ingram y Moschella, lo consideran básicamente diatesis constitucional, Barber, a esta predisposición genética le llama diatesis seborreica. Sin embargo, Davies enfatiza, que no hay pruebas de su existencia. Rook, propone como factor predisponente, anormalidades funcionales y estructurales de las glándulas sebáceas, probablemente determinadas por un tipo de herencia. Tamayo, también acepta un factor constitucional hereditario y refiere que no es posible determinar la forma de herencia. ⁽⁸⁾

Factor Hormonal:

Paul Unna, fue el primero que comunicó que los estados seborreicos del individuo son más aparentes en la pubertad.

Posteriormente Sabouraud, enfatiza que el estado graso de la piel tiene relación con la pubertad, ya que en esta etapa hay una mayor producción de sebo por las glándulas sebáceas y los orificios foliculares son más aparentes. Braunner, señala que la dermatitis seborreica es frecuente en la infancia y la juventud, esto es concordante con el tamaño y la actividad de las glándulas sebáceas. Rook, propone que la maduración de glándulas sebáceas puede interferir en la aparición de la enfermedad. Pochi, Stratuss y Masson, sugieren que la los dehidrandosterona andrógenos estimulan la producción de sebo y que la dehidroandosterona, esteroide androgénico adrenal es el responsable de esta estimulación.

Williams, refiere que los andrógenos, especialmente la testosterona, tiene la capacidad de incrementar las glándulas sebáceas y la secreción oleosa de la piel, sobre todo en cara y espalda; los estrógenos aumentan el contenido del agua, esto y el grosor de la piel tienden a antagonizar la acción de los andrógenos.

En el recién nacido, como resultado de la influencia hormonal de la madre durante la vida fetal, es común notar la hiperplasia de las glándulas sebáceas, que se traduce en la variedad clínica denominada costra de leche, fenómeno transitorio que desaparece después de los tres primeros meses de vida. Fuera de éste fenómeno la etiología es desconocida.

Factores Psicológicos:

La piel es un órgano sujeto a la influencia directa del sistema nervioso y al efecto indirecto de la actividad endocrina. Durante los últimos años se ha aceptado cada vez más la influencia de estos factores en la génesis de las enfermedades somáticas, en consecuencia los dermatólogos han señalado la estrecha relación entre estos factores y enfermedades de la piel.

Robin y Kepecs, describen un aumento en la secreción sebácea durante períodos de estrés.

Kahn, comunica que en las dermatosis psicógenas habitualmente existe un conflicto profundo, originado en la influencia por el deseo de afecto y miedo al rechazo. Así mismo refiere la importancia de las frustraciones o de las satisfacciones emocionales en la fisiopatología de la piel, estas sensaciones son estímulos autonómicos cuya respuesta modifica la circulación y la actividad

glandular cutánea. Es posible que la dermatitis seborreica se presente en pacientes por un mecanismo endocrino, quizás a través de los efectos del estrés.

Factores Dietéticos:

En 1922, Barber fue el primero que menciona la dieta como causa etiológica de esta dermatosis, la relaciona con ingesta abundante de grasas e hidratos de carbono especialmente frutas frescas con una difícil digestión de los hidratos de carbono, sin embargo, no existe evidencia de esto.

Existe controversia en relación a la alimentación y la deficiencia de vitaminas específicamente la biotina, debido a que algunos autores consideran que tiene influencia en la presentación de la dermatitis seborreica.

La biotina es una vitamina que actúa como coenzima que participa en las reacciones de carboxilación, descarboxilación y desaminación de los ácidos grasos. Esta vitamina se encuentra en pequeñas cantidades en las vísceras, la yema del huevo, leguminosas, nueces, cereales y la leche.

Existen comunicaciones en la literatura que pacientes con desnutrición severa, insuficiencia hepática y/o pancreática han presentado dermatitis seborreica, y no existe una explicación satisfactoria de este hecho. También se ha sugerido que una administración en grandes cantidades de vitamina "B" y la deficiencia de proteínas está relacionada con la enfermedad.

Factor Ambiental:

Rook, refiere que en esta entidad es más frecuente que se presente en el invierno. A diferencia de Tánger que considera que se presenta con más

frecuencia en el verano ya que considera que la luz solar y la sudoración excesiva son factores predisponentes. En años recientes estas hipótesis han quedado relegadas por carecer de sustento científico.

Factor Infeccioso:

El papel de los microorganismos en la patogenia de la enfermedad ha sido muy discutido, existen opiniones de algunos autores que piensan que éstos sean la causa de la dermatosis, otros afirman categóricamente que no, con base en que estos microorganismos son saprobios de la piel.

Paul Unnan, observó a estos microorganismos en pacientes con pitiriasis capitis, les denominó marococos que posteriormente fueron identificados como *estafilococos*.

Strauus y Cols., también encontraron abundantes bacterias, con predominio de *Streptococos* en pacientes con dermatitis seborreica facial.

La participación de *Malassezia spp.*, en la dermatitis seborreica constituye otra hipótesis para tratar de explicar su génesis, esta levadura lipófilica pertenece a la microbiota cutánea; También se ha asociada a otras dermatosis tales como, papilomatosis reticulada y confluyente de Gougerot-Carteaud, psoriasis, dermatitis atópica. El papel de la levadura del género *Malassezia* en pitiriasis versicolor y foliculitis esta bien definido, pero en la dermatitis seborreica es discutible.

La dermatitis seborreica esta asociada con la levadura del género *Malassezia*, en 1 al 3% de la población general. La frecuencia de esta enfermedad es muy alta en los pacientes inmunocomprometidos, especialmente en los infectados por VIH, en los que se presenta del 30% a 33%. La topografía más

importante es aquella en la que se encuentra un mayor número de glándulas sebáceas con niveles altos de lípidos. ⁽⁹⁾

Fisiopatología

La fisiopatología de la dermatitis seborreica es desconocida. Las hipótesis a las que se les ha dado más peso en la actualidad, son la seborrea y la asociación de levaduras del género *Malassezia*.

Seborrea

La implicación de la seborrea en la fisiopatología de la dermatitis seborreica se basa por un lado, en argumentos cronológicos; esta dermatosis se presenta en edades en la que la actividad sebácea es máxima tales como, en el recién nacido y en el adulto joven. Otro argumento es de carácter topográfico, esta dermatosis se localiza en zonas donde la actividad sebácea es más importante como en la centofacial, piel cabelluda y la región preesternal. Sin embargo, aunque algunos estudios observan niveles elevados de seborrea en los pacientes, otros en cambio no encuentran diferencia en la seborrea. Por otro lado, llama la atención que en pacientes con acné la frecuencia de dermatitis seborreica es baja.

Un estudio original demostró que en los pacientes con dermatitis seborreica, las zonas afectadas de la cara tenían una temperatura superior al resto; esto debido a que la temperatura de la piel varía en función de la composición lipídica sobre la superficie cutánea.

Papel de *Malassezia*

Desde hace tiempo, se ha relacionado a las levaduras del género *Malassezia* con la dermatitis seborreica. Hasta el año 2007 se han identificado trece especies del género *Malassezia*: *M. furfur*, *M. obtusa*, *M. globosa*, *M. sloffiea*, *M. sympodialis*, *M. pachydermatis*, *M. restricta*, *M. dermatis*, *M. japónica*, *M. nana*, *M. yamatoensis*, *M. equi*, *M. caprae*. En las lesiones faciales de dermatitis seborreica se han aislado *M. globosa* y *M. furfur*, y en la piel cabelluda, *M. globosa* y *M. restricta*.

Actualmente se sigue discutiendo el papel de *Malassezia* en la presentación de la dermatitis seborreica. Uno de los argumentos a favor de esta hipótesis es que en las zonas afectadas por esta entidad se encuentra una gran cantidad de levaduras. Sin embargo, esta es saprobia y únicamente se manifiesta como dermatitis seborreica en el 3% de la población general. La relación entre la intensidad de la dermatitis seborreica y la densidad de levaduras es muy discutida, algunos estudios, han demostrado una concentración mayor de *Malassezia* en personas con dermatitis seborreica en comparación con un grupo testigo.

Otro argumento a favor de la participación de *Malassezia* es de orden terapéutico; ya que al administrar antifúngicos es evidente la mejoría clínica que coincide con la disminución en la densidad de *Malassezia*, esto documentado por los trabajos de Shuster. Otros autores difieren de lo anterior y proponen que el papel de *Malassezia* es más inmunógeno y proinflamatorio que infeccioso.^(10,11,12,13)

Clasificación clínica:

I.- Dermatitis seborreica del adulto

- a) Pitiriasis *capitis*
- b) Pitiriasis esteatoide
- c) Dermatitis seborreica facial
- d) Blefaritis marginal
- e) Dermatitis seborreica de barba, bigote y pubis
- f) Eccemástides seborreicas
- g) Dermatitis seborreica intertriginosa

II.- Dermatitis seborreica del niño

- a) Costra de leche
- b) Dermatitis seborreica infantil
- c) Seudotiña amiantácea de Alibert
- d) Eritrodermia descamativa de Leiner-Mousos

III.- Infección sistémica por *Malassezia*

IV.- Dermatitis seborreica en SIDA

Cuadro Clínico

Costra de leche: Se presenta en los tres primeros meses de vida, se manifiesta por una hiperplasia de las glándulas sebáceas en el dorso de la nariz, así como placas escamosas, oleosas con una base eritematosa, de tamaño y de formas variables en la piel cabelluda, en región centrofacial y media del tórax.

Dermatitis seborreica infantil: Por razones aun no conocidas la secreción sebácea es mayor en esta variedad clínica. Se presenta entre la tercera y cuarta semana de vida, inicia en la piel cabelluda, posteriormente las lesiones se presentan de forma progresiva en la frente, cejas, pestañas, pliegues retroauriculares, alas de nariz, en algunas ocasiones pueden diseminarse al cuello, axilas, ingles, ombligo, región perianal, genitales y puede generalizarse, se caracteriza por eritema, escamas de color blanco-amarillento, las cuales son adherentes, oleosas, de forma y tamaño variable. Puede haber fisuras y exulceraciones. Generalmente no hay síntomas y el prurito es muy ligero, en pocos meses hay tendencia a la remisión espontánea.

Seudotiña amiantácea de Alibert: Se presenta en los niños de ambos sexos de uno hasta los trece años, afecta piel cabelluda y se manifiesta por, escamas gruesas blanquecinas o grisáceas y/o escamocostras.

Eritrodermia descamativa o enfermedad de Leiner Moussos: Es la forma grave de la dermatitis seborreica, predomina en niños alimentados al seno materno, se han descrito casos familiares, se trasmite de forma autosómica recesiva, comienza bruscamente entre los 2 y 4 meses de edad. Se originan en la piel cabelluda así como pliegues, desarrollándose rápidamente un eritema intenso y descamación profusa que afecta toda la superficie cutánea con predominio en la cara. Se asocia con candidosis de los pliegues, diarrea severa, infecciones locales y sistémicas recurrentes por gram-negativos, se afecta el estado general y pueden

llegar a la muerte. En estos pacientes se encuentran niveles bajos de la fracción 5 del complemento.

Dermatitis seborreica del adulto

Pitiriasis capitis: Es una entidad muy frecuente, se presenta generalmente a los diez años de vida, se caracteriza por, escamas finas, secas, pequeñas e irregulares de color grisáceo denominada vulgarmente “caspa”. Este estado escamoso generalmente afecta toda la superficie de la piel cabelluda y puede presentarse prurito de leve a moderados.

Pitiriasis esteatoide: Esta variedad clínica se presenta en forma difusa a la piel cabelluda, de manera característica hasta el margen frontal de implantación del cabello, por lo que se le ha denominado “corona seborreica”, puede afectar, cejas, pliegues nasogenianos, con eritema intenso, así como grandes escamas amarillentas.

Dermatitis seborreica facial: Este cuadro es más frecuente en hombres y después de la adolescencia, se presenta de manera progresiva, evoluciona en episodios con remisiones y exacerbaciones hasta la edad de 40 años. La topografía característica predomina en la parte central de la cara, región interiliar, surcos nasogeneanos, así como los pliegues retroauriculares y el borde de la piel cabelluda. Se manifiesta por eritema y escamas blanquecinas oleosas que confluyen para formar placas, no adherentes (fig. 1 y 2). En algunos

casos se presentan placas de crecimiento centrífugo, de aspecto anular con eritema más marcado en la perifería. La afección puede ser mínima y limitarse a un simple eritema y escamas finas en los pliegues nasogenianos.

En la mayoría de los casos, las lesiones son asintomáticas; puede presentarse prurito y ardor de leve a moderado. Los episodios pueden aparecer de manera espontánea o como consecuencia del estrés. La exposiciones solar tiene un efecto beneficioso.



Figura 1. Aspecto clínico de dermatitis seborreica facial severa, con compromiso centro facial

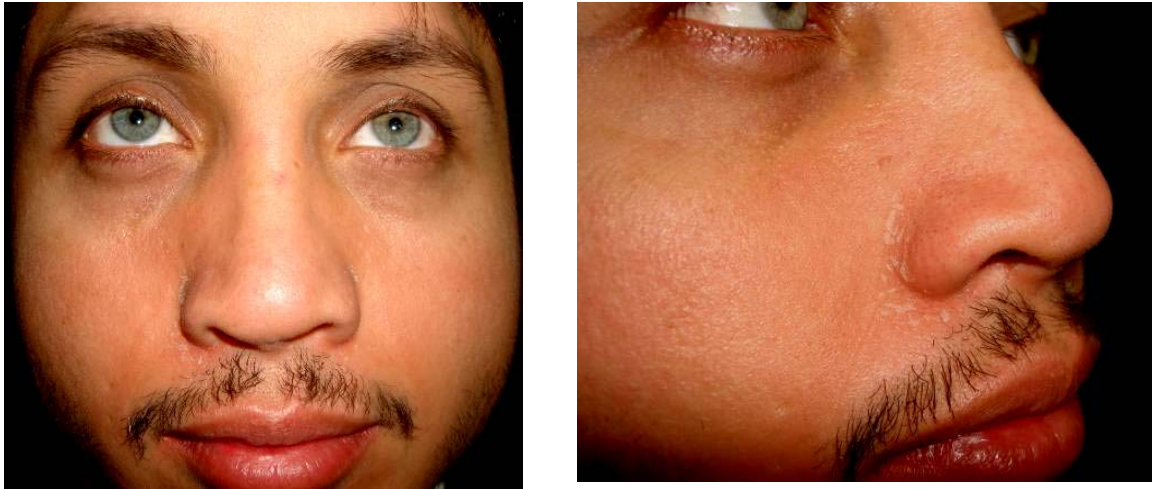


Figura 2. Presencia de eritema y escama oleosa en los pliegues nasogeneanos

Blefaritis marginal: En esta variedad clínica se compromete el borde libre de los párpados, y se caracteriza por eritema y descamación fina, se puede presentar prurito y como consecuencia perdida parcial de las pestañas y se acompaña de orzuelo, se puede ver aislada o asociada a la dermatitis seborreica facial.

Eccematides seborreicas mediotoracicas de Brocq: Predomina en jóvenes con una relación hombre-mujer 1:1. Se presenta al inicio por pequeñas placas puntiformes rosadas cubiertas por una escama amarillenta y oleosa, se extienden concéntricamente, formando placas circulares o de contornos policíclicos, de tamaño variables, con bordes eritematoescamosos bien limitados. Puede presentarse prurito, bajo la influencia de la transpiración, están sujetos a brotes y desapariciones espontáneas.

Dermatitis seborreica intertriginosa: Se presenta en adultos entre la tercera y cuarta década de la vida y en adolescentes obesos, se afectan las axilas, ingles, pliegues submamarios, ombligo, región genital, predominando en el surco balano prepucial y clítoris, se manifiesta con eritema, escamas untuosa y fisuras que se agrupan en placas de bordes netos y eritema intenso. La infección secundaria es frecuente.

Diagnóstico:

El diagnóstico de la dermatitis seborreica es clínico, fácil de realizar, en algunos pacientes con mala respuesta al tratamiento son necesarios estudios complementarios tales como micológico e histopatológico.

El estudio micológico es un examen útil para confirmar la presencia de *Malassezia spp.* ya sea por examen directo con KOH o cinta scotch, teñida con tinta Azul Parker o con solución de Albert con la finalidad de evidenciar las estructuras fúngicas características. El cultivo en medio de Saboraud adicionado con aceite de olivo al 10%, en medio de Dixon o Dixon modificado.

Histopatología: En epidermis existe una hiperqueratosis con zonas de paraqueratosis, acantosis, de leve a moderada, ligero edema intercelular y espongirosis, exostosis discreta de polimorfonucleares. En dermis superficial capilares dilatados. ^(14,15)

Diagnóstico diferencial

En el adulto

El principal diagnóstico diferencial de la dermatitis seborreica es la psoriasis denominada, sebopsoriasis. Desde el punto de vista clínico, las lesiones psoriásicas de la cara son en algunos pacientes indistinguibles de la dermatitis seborreica; la presencia placas eritemato-escamosas en otras topografías, como en piel cabelluda, codos, rodillas y uñas, nos permite establecer el diagnóstico de psoriasis.

El diagnóstico diferencial con rosácea se establece por la presencia de eritema, pápulas, pústulas, y el compromiso ocular que generalmente presentan los pacientes con esta entidad.

El pénfigo seborreico, en su inicio, suele presentarse en forma de placas eritematosas con escamocostras que pueden confundirse con dermatitis seborreica. La dermatitis atópica con topografía en cabeza y cuello constituye otros de los diagnósticos diferenciales, en esta no se observa la distribución típica en las zonas seborreicas y las lesiones son pruriginosas.

Enfermedades asociadas

En niños la dermatitis seborreica se puede asociar a dermatitis atópica, púrpura e infecciones sistémicas, así como a síndrome de Wiskott-Aldrich. En los adultos puede asociarse a diabetes mellitus tipo 2, linfomas, psoriasis, acné, rosácea, dishidrosis y dermatitis numular entre otras.

Pronóstico:

El pronóstico es bueno, tanto en niños como adultos, generalmente tiende a la recidiva. En la forma grave de la dermatitis seborreica (Enfermedad de Leiner) puede ser mortal.

La dermatosis se puede complicar con dermatitis por contacto, corticoestropeo e infecciones piógenas.

Tratamiento:

Es importante explicar al paciente las características de esta entidad, así como las medidas generales eliminando medicamentos innecesarios. La hidrocortisona es útil, pero no se recomienda por el riesgo de dependencia. Se recomienda champú con diferentes principios activos como, piritionato de zinc, ácido salicílico, azufre, disulfuro de selenio, alquitrán de hulla, ketoconazol al 2% este último se puede aplicar también en crema una vez al día, o bien inmunomoduladores macrolactámicos como tacrolimus a 0.1% y pimecrolimus a 1% en crema dos veces al día. ^(16,17)

Malassezia spp.

Aspectos históricos

En 1846, al comienzo de la micología médica, el cirujano alemán Eichtedt comunica por primera vez el hallazgo de estructuras fúngicas – esporas y micelios en las escamas de la pitiriasis versicolor y en 1847, Sluyterter la describió como causada por una planta parásita y ambos autores la designaron como pitiriasis versicolor y propusieron la etiología fúngica de las lesiones. En 1853, Charles Robin consideró al parásito un dermatofito y lo llamó *Microspor furfur* y a la enfermedad “tiña versicolor”. En 1873, Rivolta lo consideró un parásito vegetal, al que denominó *Cryptococcus psoriasis* por haberlo encontrado en un paciente con psoriasis vulgar. En 1874 el micólogo francés Malassez realizó una descripción detallada de éste microorganismo e insistió en la naturaleza lavaduriforme (*Saccharomyces sphericus* y *Sccharomyces ovalis*) considerándolo como distinto a cualquier hongo micelial conocido, aunque no le dio un papel patógeno. En 1886, Boeck identificó a éstos microorganismos en pacientes con pitiriasis capitis y no lo consideró importante. Baillon, propone en 1889 un género monotípico, y le denominó *Malassezia*, en honor a Malassez, e incluyo y consideró que se trataba del agente etiológico *Malassezia furfur*, aludiendo el carácter finamente descamativo (furfuráceo) de las lesiones.

En 1891, Paul Unna, consideró que las células ovoides y en forma de botella observadas en cantidades elevadas en pacientes con pitiriasis capitis, eran bacilos a los que denominó: *Bacille-Bouteille*. En 1894, Hodara confirmó lo visto por Unna, observó estructuras en forma de botella, redondas y consideró que podían pertenecer a la misma especie. El género *Pityrosporum* fue creado por

Sabouraud en 1904 para agrupar a las levaduras carentes de pseudomicelio, observadas en la piel cabelluda, y en la cara, de individuos sanos, en pacientes seborreicos e incluso propone que estas levaduras se encontraban implicadas en la etiología de la pitiriasis cápitis y observó su similitud con las descritas en la pitiriasis versicolor.

El eslabón entre las fase levaduriforme y la micelial fue establecida por algunos de los primeros investigadores. La observación de que ambos microorganismos se asociaban con enfermedades crónicas escamosas de la piel y se resistían a ser cultivados, condujo a Sabouraud a la conclusión de que ambos microorganismos pudieran estar relacionados. En 1913, Kraus describió células levaduriformes con hifas en muestras de la piel seborreica y concluyó que *Pityrosporum* era la fase esporulada del hongo micelial. En el mismo año, Castellani y Chalmers fueron quienes primero cultivaron *Malassezia* y se le dió el nombre de *Pityrosporum ovale* a este hongo. Posteriormente Weidman, en 1925, denominó *Pityrosporum pachydermatis* a una levadura aislada de un rinoceronte que padecía una dermatitis exfoliativa.

Entre 1896 y 1927 algunos investigadores comunicaron el aislamiento del microorganismo, pero la autenticidad de éstas declaraciones fueron cuestionable, ya que en sus medios de cultivos no incluyeron lípidos.

Dodge en 1935, en la primera edición de su libro: "las levaduras, un estudio taxonómico" consideró al género *Pityrosporum* como sinónimo de *Malassezia*, el cuál se diagnosticaba por la presencia de células ovaladas o en forma de botella sin micelio.

En 1938, Benham cultivó *Malassezia furfur* a partir de lesiones de pitiriasis versicolor en un medio de cultivo con peptona al 1% y maltosa al 4% e incubado a 37 C. En 1951, *Malassezia furfur* fue aislada en forma auténtica por Morrison Gordon, quien cultivó levaduras redondas a partir de muestras obtenidas tanto de piel normal como de piel con pitiriasis versicolor y le dio el nombre de *P. orbiculare*, que se diferenciaba de *P. ovale* por la forma de las células levaduriformes (redondas u ovaladas) y la colocó en el género *Pityrosporum*.

Burke (1961) y Keddie y colaboradores sugirieron que *P. orbiculare* representaba una fase de *M. furfur*. En 1967, More y Alexander estudiaron 86 pacientes con dermatitis seborreica y aceptaron que *P. orbiculare* y *P. ovale* eran miembros de la flora normal de la piel cabelluda.

Históricamente se consideraba a *M. furfur* un hongo micelial que causaba pitiriasis versicolor, *P. ovale* como una levadura que causaba dermatitis seborreica y a *P. orbiculare* como parte de la microbiota de la piel de zonas seborreicas. Dichos microorganismos fueron clasificados en el género *Pityrosporum* por la mayor parte de los investigadores. En 1977, se demostró que la fase levaduriforme de *P. ovale* y *P. orbiculare* podía ser cultivada in vitro para producir hifas. El cultivo resultante era micromorfológicamente idéntico a *M. furfur*.

En 1986, la comisión internacional sobre la taxonomía de los hongos, decidió mantener el nombre de *Malassezia*. A partir de entonces, sólo dos especies fueron consideradas taxonómicamente válidas; *Malassezia furfur*, asociada a la piel humana, y *Malassezia pachydermatis*, con la piel de los animales.

En 1989, Midgley estudió colonias de *P. orbiculare*, *P. ovale* y *P. pachydermatis* por medio de pruebas inmunológicas y con electroforesis de proteínas, lo que le permitió diferenciarlas. Posteriormente las nuevas técnicas de biología molecular permitieron su clasificación.

En el mismo año, Guého y Meyer, consideraron a *P. ovale* y *P. orbiculare* como sinónimos de *Malassezia furfur*. Analizaron los porcentajes moleculares de guanina - citocina (G-C) y las reasociaciones de DNA-DNA en diferentes cepas de *Malassezia furfur* y *Malassezia pachydermatis*. Los resultados de estos estudios demostraba diferencias significativas entre ambas especies, pero no entre las distintas cepas de cada una de ellas, lo que parecía corroborar la clasificación entonces admitida.

Un año más tarde en 1990, Simmons y Guého describen una nueva especie, a la que le dan el nombre de *Malassezia sympodialis*, la cual fue aislada del conducto auditivo de un hombre sano de 33 años de edad y la piel cabelluda de un francés contagiado de VIH, que tenía además tiña de la cabeza. Sin embargo, en los comienzos de la década de los noventa, los datos obtenidos por otros investigadores apuntaban a una mayor complejidad del género *Malassezia*. Cunninham y cols. en su estudio reconocieron tres serovariantes entre las especies de *M. furfur* designados como A, B, C y poco más tarde Midgley definió la existencia de cuatro tipos morfológicos estables.

Guého y Guillot en 1994, estudiaron las secuencias parciales del ARNr255S, con cepas de *M. furfur*, *M. pachydermatis*, *M. sympodialis*, así como las variedades descritas por Midgley, Cunninham y llegaron a la conclusión de que *M. furfur*, *M. ovale* y *M. orbiculare* corresponde a una misma especie y que las

variedades de Midgley y Cunninham estaban relacionadas con *M. sympodialis* y otras especies de *Malassezia* descrita hasta ese momento, *Malassezia furfur*, *Malassezia pachydermatis* y *M. sympodialis*, con una relación G-C de 66%, 55.5% y 54%, respectivamente.

Se abrían así las puertas a una restricción taxonómica del género *Malassezia*. En 1995, la taxonomía del género *Malassezia* fue revisada por su morfología, biología molecular (DNA/DNA complementario y secuencia similar LSU rRNA). Como resultado el género incluyó 7 especies: *M. furfur*, *M. pachydermatis*, *M. sympodialis*, *M.globosa*, *M. slooffiae* y *M. obtusa*.

Guillot y cols. elaboraron un estudio, en el compararon las características morfológicas y fisiológicas de las siete especies de *Malassezia*, se cultivaron en un medio agar Dixon (que contiene 3.6% extracto de malta, 0.6% de peptona, 2% Oxoi, 0.1% de Tween 40, 0.2% de glicerol, 0.2% de ácido oleico, agar 1.2%, pH 6.0), a 32 C. A la semana se examinó la morfología de las cepas con microscopía de luz y microscopia electrónica y de esta manera se definió la morfología de estas especies.

Las características fisiológicas fueron realizadas por la reacción a la catalasa y la asimilación de Tween 20,40,60 y 80. La utilización de Tween fue evaluada por el grado de crecimiento y/o reacción alrededor de las cepas lipofílicas. Estas características se correlacionaron con las diferencias basadas sobre técnicas moleculares.

También se utilizó la capacidad de crecimiento en los cultivos a diferentes temperaturas para distinguir las especies. Dos grupos de cepas lipofílicas fueron identificadas: las que fueron capaces de crecer a temperatura superior de 41 C (

M. furfur, *M. pachydermatis*, *M. sympodialis* y *M. slooffiae*), y las de un crecimiento a 38 C (*M. globosa*, *M. restricta*, *M. obtusa*).

Se han realizado otras pruebas para determinar la actividad metabólica de las levaduras utilizando cromatografías en capa fina y se ha demostrado que *M. sympodialis* produce estrés etílico al crecer en aceite de oliva, aceite de soya, trinoleína y trilinoleína, igual que otras especies de *Malassezia*, excepto con *M. furfur*. Las curvas de crecimiento en aceite de oliva también difieren en ambas especies, siendo superiores en *M. sympodialis*. Una prueba que permite diferenciar *M. furfur* de *M. sympodialis* es la prueba de la escualina. Para la identificación de *M. furfur* y *M. pachydermatis* es útil la prueba del poder inhibitorio del polidocanol.

Las características de las especies de , *Malssezia sympodialis*, *M. globosa* y *M. restricta* corresponden a serovariantes A, B y C, respectivamente, en la clasificación de Cunningham y cols.

En 1996 se hizo una revisión taxonómica, se aceptó el nombre de *Malassezia* como el correcto para el género, se agregaron además cuatro nuevas especies: *M. slooffiae*, *M. obtusa*, *M. globosa* y *M. restricta*.

Actualmente se han identificado nuevas especies de *Malassezia*, por lo que se consideran trece especies. En el 2002, Sugita T describió una nueva especie del género *Malassezia*, a la que denominó *M. dermatis* la observó en la piel de pacientes con dermatitis atópica utilizando análisis de secuencia DNA ribosomal. En el 2003, el mismo autor describe la novena cepa de *Malassezia* llamada *M. japónica*; la cual se recuperó de la piel de una paciente japonesa sana y en el año 2004 se aisló la especie numero diez denominada *Malassezia nana*, y a finales

del año 2006 fueron descritas tres especies más *M. yamatoensis*, *M. equi* y *M. caprae*. La especie numero once aislada a partir de pacientes con dermatitis seborreica facial, la especie doce fue aislada de caballos y la ultima del oído externo de humanos.

Se han realizado cariotipos de las especies de *Malassezia* y se han identificado pequeños genomas, variando entre 6.4 y 12.6 Mb, los cuales son sorprendentemente estables entre ellas, excepto para *M. furfur* a quien se le han encontrado dos genomas diferentes.

En investigaciones epidemiológicas se ha utilizado el análisis de cariotipos para la identificación de especies de *Malassezia*, por medio de técnicas como PCR (reacción en cadena de polimerasa), PFGE (pulsed field gel electrophoresis), RAPD (random amplified polymorphic DNA), restricción de análisis de secuencias de nucleótidos de la subunidad larga del RNA o DNA ribosomal. Se considera que las técnicas RAPD y PCR son las mejores para la identificación de las especies de *Malassezia* en investigaciones epidemiológicas. (18,19,20,21,22,23,24,25)

A continuación se describen las características de cada una de las especies de *Malassezia*.

Malassezia pachydermatis

Características morfológicas macroscópicas y microscópicas

En agar glucosa/peptona a los siete días de incubación a una temperatura de 32°C, las colonias son mate , convexas, algunas veces cupuliformes y blanquecinas. El

tamaño de las colonias tiene en promedio de 5 mm de diámetro y presentan una textura generalmente suave o quebradiza. Las células son pequeñas ovales a elipsoides (2-2,5 x 4-5 μm). La reproducción es asexual y se lleva a cabo a través de gemación enteroblástica unipolar. Las gemas se forman sobre una base ancha (es la más grande de todas las especies) dejando una prominente cicatriz en la célula madre al separarse.

Características fisiológicas y bioquímicas

M. pachydermatis difiere de las cepas lipodependientes por el hecho que la suplementación de lípidos no es un requerimiento necesario para su desarrollo. Por lo tanto, puede aislarse con relativa facilidad con medios de cultivo habituales como el agar glucosado de Sabouraud. No obstante, puede crecer, cuando se incorporan grasas tales como Tween 80, aceite de germen de maíz y aceite de oliva.

Aunque los ensayos de fermentación de azúcares son negativos y no pueden aplicarse las pruebas estándar de asimilación en *Malassezia*, algunos investigadores a través de modificaciones de las pruebas de asimilación, obtuvieron resultados positivos para *M. pachydermatis* en las siguientes fuentes de carbono: D-glucosa, D-manitol, D-glucitol, glicerol, ácido láctico, ácido cítrico, sorbitol, sacarosa, maltosa e insulina y para peptona como fuente de nitrógeno. La incorporación de Tween 10% en agar glucosa/peptona inhibe su crecimiento. La temperatura óptima de crecimiento es de 37 grados centígrados, sin embargo puede desarrollar hasta 41. Recientemente a *M. pachydermatis* se le ha demostrado actividad proteinasa, hialuronidasa y condroitin-sulfatasa.

Para la conservación de esta levadura, algunos investigadores han citado varios métodos de mantenimiento y conservación de cepas, utilizando medios de cultivos como el agar Dixon modificado a diferentes temperaturas, congelación y liofilización. Los mejores resultados de conservación se obtuvieron mediante la congelación en nitrógeno líquido, con un 100% de recuperación manteniendo las cepas durante dos años, y mediante la liofilización, con un 97% de viabilidad después de 5 años.

Características ecológicas y epidemiológicas

Está claramente establecido que *M. pachydermatis* forma parte de la microbiota cutánea de perros y gatos, por lo que puede aislarse a partir de la piel y de mucosas de estos animales, aunque el número de levaduras aisladas es diferente dependiendo de las diferentes localizaciones anatómicas. Por ejemplo, en el perro puede aislarse frecuentemente del conducto auditivo externo, cavidad oral, labio inferior, área interdigital y el ano, a diferencia del área nasal, prepucio, vulva, axila, ingle y dorso en donde el aislamiento es menor. La ecología de esta levadura en la piel canina ha sido ampliamente estudiada debido a su importancia como patógeno oportunista.

Esta levadura, puede llegar a ser patógena como consecuencia de cualquier alteración en el microambiente de la superficie de la piel o de las defensas del huésped. Los factores primarios que favorecen la multiplicación de *M. pachydermatis* son: la producción excesiva y/o una modificación de la naturaleza de las propiedades del sebo o del cerumen, humedad elevada, una ruptura de la barrera epidérmica y la presencia de pliegues cutáneos. Estas modificaciones

pueden estar relacionadas con, atópicas, piodermatitis, ectoparasitosis, endocrinopatías y otras alteraciones metabólicas que provocan seborrea.

Las principales infecciones asociadas a *M. pachydermatis* en los animales son otitis externas y dermatitis seborreicas, que afectan preferentemente a perros y gatos. La infección se ha documentado en un bajo porcentaje en neonatos prematuros de bajo peso, internados durante largos períodos en unidades de cuidados intensivos y que han recibido antibióticos de amplio espectro y alimentación parenteral a base de lípidos, así como en pacientes inmunodeprimidos. De hecho, algunos estudios sugieren que su presencia en la piel humana está causada por la transferencia de *M. pachydermatis* a partir de piel de los animales.

Malassezia furfur

Características morfológicas macroscópicas y microscópicas

En agar Dixon modificado, después de siete días de incubación a 32°C, presentan colonias color mate u opacas, planas y ligeramente replegadas con elevación convexa (5 mm de diámetro en promedio) con una textura suave.

La micromorfología es variable en forma y tamaño, presentando células ovales, cilíndricas (1,5-3x2,5-8µm) o esféricas (2,5-5µm de diámetro). Las gemas se forman sobre una base ancha. Pueden estar presentes filamentos en cualquier punto de la superficie celular.

Características fisiológicas y bioquímicas

Malassezia furfur es una levadura que requiere para su desarrollo la adición, de ácidos grasos de cadena larga al medio de cultivo. Crece en agar glucosa/peptona adicionando Tweens 20, 40, 60, 80 como única fuente de lípidos. A diferencia de otras especies, tiene la capacidad de utilizar glicina como única fuente de nitrógeno. Esta especie presenta actividad fosfatasa alcalina, fosfatasa ácida, N-naftol fosfohidrolasa, lipasa, leucina - arilaminasa, B-glucosidasa. El crecimiento de temperatura a 37 grados centígrados es bueno, pero puede crecer a un máximo de 41.

Las células de esta especie sobreviven a la liofilización. Si embargo, los métodos de almacenaje a -80 grados centígrados y la congelación a -80 grados centígrados utilizando glicerol al 10% como agente crioprotector han dado buenos resultados.

Características ecológicas y epidemiológicas

Durante años, esta especie se ha relacionado a infecciones de la piel, tales como pitiriasis versicolor, foliculitis, dermatitis seborreica y dermatitis atópica. No obstante, con la nueva clasificación de las especies se desconoce el papel de *M. furfur sensu stricto* en enfermedades cutáneas. En estudios recientes, realizados en pacientes con pitiriasis versicolor o dermatitis seborreica, no se ha podido aislar esta especie.

Se le ha implicado junto con *M. pachydermatis* como causantes de sepsis en pacientes que reciben emulsiones lipídicas por vía parenteral, principalmente en neonatos que son considerados de alto riesgo. Sin embargo, se han descrito

también, casos de pacientes con septicemia que no presentaban factores de alto riesgo.

Recientemente se ha descrito la presencia de *M. furfur* aislada de otitis externa en vacas y perros; así como en el conducto auditivo externo de gatos sanos.

Malassezia sympodialis

Características morfológicas microscópicas y macroscópicas

Las colonias en agar Dixon modificado a 32°C después de siete días de incubación son refringentes, lisas, aplanadas, con un tamaño promedio de 5mm, generalmente con una ligera depresión central. El margen es bien circunscrito y la textura es de consistencia blanda. La microformología de esta especie nos muestra células usualmente orbiculares, con diámetro entre 2,5-7,5x2-8um, con la base más estrecha que la célula madre pero de igual grosor que la gema. Característicamente presenta una gemación simpodial que la diferencia de las otras especies.

Características fisiológicas y bioquímicas

Esta especie es lipodependiente. Generalmente no crece en agar glucosa/peptona con Tween 20 al 10% utilizada como única fuente de carbono. Sin embargo se observa crecimiento cuando se agrega al medio Tween 40, 60 y 80 a una concentración de 1-10%. Se ha demostrado actividad de fosfatasa alcalina, estereasa, estereasa lipasa, fosfolipasa ácida. A diferencia de *M.furfur* no utiliza la

glicina como única fuente de nitrógeno. El crecimiento óptimo es de 34°C centígrados, sin embargo, puede crecer a 37°C con un máximo de temperatura de 41°C. Las células sobreviven a la liofilización.

Características ecológicas y epidemiológicas

Malassezia sympodialis es una de las especies que se ha asociado a pitiriasis versicolor y dermatitis atópica. Esta especie es la que con mayor frecuencia se ha asociado a dermatitis atópica y empeoran el cuadro clínico esta. Estudios realizados en niños, sugiere que esta especie tiene un papel importante en la forma severa de la pustulosis cefálica neonatal.

Malassezia globosa

Características morfológicas macroscópicas y microscópicas

Esta levadura requiere para su desarrollo de siete días de incubación en medio Dixon modificado a 32°C, se obtienen colonias de 4 mm de diámetro, elevados, plegadizos, rugosos, de textura generalmente áspera. Presenta levaduras esféricas con un diámetro que varía entre 2,5-8um de diámetro, con gemas formadas en una base angosta de la célula.

A diferencia de otras especies, las cicatrices después de la gemación no se desarrollan en forma prominente. En ocasiones se presentan filamentos cortos localizados en el origen de la gema, pueden observarse ramificaciones en el punto de unión de la célula madre. Algunas células hijas pueden elongarse,

simulando un tubo germinativo o filamentos cortos semejantes a los presentes en las escamas de la pitiriasis versicolor.

Características fisiológicas y bioquímicas

Malassezia globosa pertenecen a las levaduras que requieren la adición al medio de ácidos grasos de cadena larga para su desarrollo. No crece en agar glucosa/peptona conteniendo Tweens 20, 40, 60 y 80 como única fuente lipídica. Sin embargo, en ocasiones, al igual que *M. obtusa* y *M. restricta*, se forma un anillo de precipitación alrededor del pocillo que contiene Tween 40 y 60, sin ningún crecimiento visible. Esta precipitación a veces avanza hacia el pocillo, hasta formar un disco opalescente completo. Ocasionalmente puede formarse colonias pequeñas a lo largo de una línea entre los pocillos que contienen Tween 60, 80 y entre los que contienen Tween 80 y 20. Este fenómeno podría representar un sinergismo con bajas concentraciones del lípido correspondiente. Crece a 37°C. Esta especie presenta actividad fosfatasa alcalina, estereasa, estereasa lipasa y fosfatasa ácida.

Las células no sobreviven a la liofilización. Sin embargo, mediante la técnica de congelación a -80 grados centígrados, usando glicerol al 10% se lograron obtener excelentes resultados de recuperación.

Características ecológicas y epidemiológicas

Dentro de las especies lipodependientes *M. globosa* se aísla principalmente de pacientes con pitiriasis versicolor y dermatitis seborreica, ya sea sola o en asociación con otras especies del mismo género. Los resultados obtenidos en

diversos estudios sobre pitiriasis versicolor sugieren que esta especie juega un papel predominante en la etiología de esta enfermedad. En individuos con dermatitis seborreica, *M. globosa* representó el 72% del total de las cepas aisladas. Asimismo es considerada como uno de los principales componentes de la microbiota de la piel en pacientes con dermatitis atópica.

En los primeros trabajos relacionados con la pitiriasis capitis, frecuentemente se encontraban dos tipos de hongos, *P. ovale* y *P. orbiculare*, denominados así en base a su morfología. Posteriormente, estas levaduras asociadas a esta entidad fueron agrupadas bajo la especie de *M. furfur* serovariedad C (*M. restricta*), y serovariedad B (*M. globosa*), respectivamente. Actualmente, las técnicas de biología molecular han demostrado que *M. globosa* es una de las especies predominantes en la piel cabelluda.

Malassezia obtusa

Características morfológicas macroscópicas y microscópicas

En medio de Dixon modificado a 32°C después de siete días de incubación las colonias son planas y lisas (4mm diámetro en promedio) con una textura mucóide. Las células son alargadas y cilíndricas (4-6 x 1.5-2 um), esta especie tiene una peculiaridad morfológica, ya que juntas la célula hija con la célula madre pueden medir hasta 10um. Las gemas son formadas en una base ancha. Puede presentar filamentación y ramificaciones a partir del origen y en cualquier punto de la superficie de la célula madre.

Características fisiológicas y bioquímicas

Es una levadura lipodependiente. Sin embargo, no tiene la capacidad de utilizar los diferentes tipos de Tween. La reacción a la catalasa y ureasa son positivas. Usualmente presentan un crecimiento a temperatura de 37°C con un máximo de 38°C. Presenta actividad enzimática, tales como, fosfatasa alcalina, estearasa y fosfatasa ácida.

La conservación de esta especie es problemática debido a que las células no sobreviven de forma constante a la liofilización. Sin embargo, mediante la congelación a una temperatura de -80 grados centígrados, usando glicerol como agente crioprotector combinado con leche desnatada, se puede obtener un 100% de recuperación de las células en medio de Dixon.

Características ecológicas y epidemiológicas

Si bien el habitat preferente de las especies lipodependientes del género *Malassezia* es la piel del hombre, esta especie se aísla con frecuencia en animales.

Malassezia restricta

Características morfológicas macroscópicas y microscópicas

En medio Dixon modificado a 32°C con un período de incubación de siete días, se desarrollan colonias de 3mm de diámetro, opacas, lisas, de bordes rugosos, con

una textura generalmente dura y quebradiza. Las células son esféricas u ovals (1,5-2x2,5-4um) con gemas formadas sobre una base angosta.

Características fisiológicas y bioquímicas

Es la única especie lipodependiente que presenta reacción negativa a la catalasa. No crece en agar glucosa/peptona en presencia de Tween 20,40,60 y 80, a una concentración de 0,1-10% como única fuente lipídica. Crece a una temperatura de 37°C con un máximo de 39 ° C. Presenta actividad enzimática, fosfatasa alcalina, estearasa y N-fosfohidrolasa. El uso de la congelación a -80 °C, utilizando glicerol como agente crioprotector, en combinación con la leche desnatada a una concentración del 10% ha resultado el mejor método de conservación.

El mantenimiento de las células mediante el sistema de liofilización no es el más apropiado en esta especie, ya que los valores de recuperación son bajos.

Características ecológicas y epidemiológicas

Malassezia restricta se aísla habitualmente en piel cabelluda de la cara de sujetos sanos y ésta frecuentemente asociada con otras especies lipodependientes.

Malassezia restricta junto con *M. globosa* están fuertemente asociadas a dermatitis seborreica. Estudios realizados en pacientes con piel sana, pitiriasis versicolor y dermatitis seborreica, *M. restricta* se aisló en 64% en pacientes con dermatitis seborreica, en pitiriasis versicolor únicamente en el 3%, mientras que en los pacientes con piel sana no se detectó esta especie.

Estudios recientes realizados en piel cabelluda demostraron la presencia de *M. restricta*, la cual junto con *M. globosa* son consideradas como agentes causales de pitiriasis capitis.

Estudios sobre la prevalencia de las especies de *Malassezia*, se encontró que *M. restricta* es más frecuente en personas entre los 15 y 40 años de edad. Estos resultados pueden ser debido a las diferencias en la cantidad y composición de los lípidos en la piel a diferentes edades.

Malassezia slooffiae

Características morfológicas macroscópicas y microscópicas

Esta levadura crece después de siete días de incubación en agar Dixon modificado a 32°C. Las colonias son rugosas, con surcos finos y textura áspera. El tamaño promedio de las colonias es de 3mm de diámetro. Presenta células cortas cilíndricas (1-2 x 1,5-4m) con la formación de gemas a partir de una base gruesa de la célula madre.

Características fisiológicas y bioquímicas

Es una levadura lipodependiente. Presenta catalasa positiva. Desarrolla crecimiento en agar glucosa/peptona en presencia de Tween 40 o 60 a una concentración desde 0,1 a 10%, como única fuente de lípidos. Sin embargo, no se observa crecimiento cuando se agrega al medio Tween 80 al 0,1%. Crece a una temperatura de 37°C con máximo de 40 grados centígrados. A diferencia de *M. furfur* y *M. sympodialis* no crece en presencia de Cremophor EL y no hidroliza la

escualina. Respecto a las actividades enzimáticas extracelulares produce fosfatasa alcalina, estearasa lipasa, fosfatasa ácida. Si bien la células sobreviven a la liofilización, la congelación a -80°C , utilizando glicerol como agente crioprotector y leche desnatada al 10% puede utilizarse para preservación y mantenimiento de esta especie, obteniendo resultados adecuados de recuperación.

Características ecológicas y epidemiológicas

Esta levadura ha sido aislada en piel de humanos, pero se ha encontrado más frecuentemente en la piel de cerdos. En la piel del humano forma parte de la biota normal. En estudios esta especie ha sido aislada en pacientes con dermatitis atópica.

Malassezia dermatis

Características morfológicas macroscópicas y microscópicas

Después de siete días de incubación en agar Leeming y Notman a 32°C , las colonias son de color blanco amarillento, de semibrillantes a opacas, convexas y de textura cremosa, las células vegetativas son esféricas, ovales o elipsoides (2-8 x 2-10 μm). Presentan un margen entero o lobulado. Se pueden formar filamentos en el área de origen de la gema.

Características fisiológicas y bioquímicas

Malassezia dermatis crece en medio de agar glucosa/peptona con suplemento con Tween 20, 40, 60 y 80 a una concentración de 0,1 -10% como única fuente lípida. La reacción a la catalasa es positiva. La utilización del Cremophor EL es positiva y la hidrólisis de la escualina es negativa. La producción de precipitados en agar Dixon modificado es positiva. Las características fisiológicas de esta especie son similares a las de *M. furfur* .

Características ecológicas y epidemiológicas

Esta especie se aisló en lesiones de piel de pacientes con dermatitis atópica en Japón.

Malassezia japonica

Características morfológicas macroscópicas y microscópicas

Con siete días de incubación a 32°C en medio agar Leeming y Notman (LN), las colonias son de color amarillo pálido, de semibrillantes a opacas, rugosas, cremosas, bien circunscritas y lobuladas. El aspecto microscópico de las células son esféricas, ovales y elipsoides (2,5 x 2,7 μ m). Presentan gemación simpodial.

Características fisiológicas y bioquímicas

Malassezia japonica crece en medio agar glucosa/peptona adicionado con Tween 40 y 60 a una concentración del 0,5% como única fuente de lípidos. No es capaz

de asimilar Tween 20 y 80. La temperatura máxima de crecimiento es a 37°C. Las reacciones a la catalasa son positiva.

Características ecológicas y epidemiológicas

Esta especie fue aislada por primera vez de la piel sana de una japonesa. Se ha recuperado también en pacientes con dermatitis atópica, se desconoce su papel patógeno en esta entidad y en otras enfermedades de la piel.

Malassezia nana

Características morfológicas macroscópicas y microscópicas

Después de de siete días de incubación en medio agar Dixon modificado, las colonias son de color crema o amarillo, de brillantes a opacas, lisas y convexas, de 2 mm de diámetro, de textura blanda y viscosa. La observación al microscopio muestra células pequeñas de forma ovoide y globosa (1,5-2 x 2,5-3µm) con gemación monopolar con una base angosta.

Características fisiológicas y bioquímicas

La reacción a la catalasa es positiva. Crece en agar glucosa/peptona con suplementación de Tween 40 ó 60. El crecimiento es pobre en medio agar/peptona suplementado con Tween 80 al 0,1%. Generalmente crece en medio glucosa/peptona con Cremophor EL. La hidrólisis de la escualina es negativa. La producción de precipitados en agar Dixon modificado es positiva. Crece a una

temperatura de 37 grados centígrados y algunas cepas pueden crecer a 40 grados centígrados.

Características ecológicas y epidemiológicas

En el 2004 en Japón se aisló por primera vez *M. nana* del conducto auditivo externo de un gato con otitis externa en Japón. Posteriormente se aislaron cepas a partir de cerumen o secreciones óticas de bovinos con y sin otitis externa.

Malassezia yamatoensis

Características morfológicas macroscópicas y microscópicas

En medio LN después de seis días de incubación a 32°C las colonias son blanco amarillentas, semibrillantes, rugosas o algunas veces plegadas. Las células vegetativas son ovales ó elipsoidales (2 -4,5 x2,7-5 m). Las gemas se forman sobre una base angosta.

Características fisiológicas y bioquímicas

Crece en agar gluosa/peptona suplementado con Tween 20 al 10%, 40 al 0,5, 60 al 0,5 y 80 al 0,1% como única fuente de lípidos. Crece a temperatura de 37°C. La reacción de la catalasa es positiva.

Características ecológicas y epidemiológicas

Esta especie fue aislada en un paciente con dermatitis seborreica en Japón. Se considera que forma parte de la microbiota cutánea en humanos. Se ha aislado de sujetos sanos y de pacientes con dermatitis seborreica y dermatitis atópica en Japón. (26, 27, 28, 29)

Tabla de las especies identificadas de *Malassezia* y los sitios donde se ha aislados

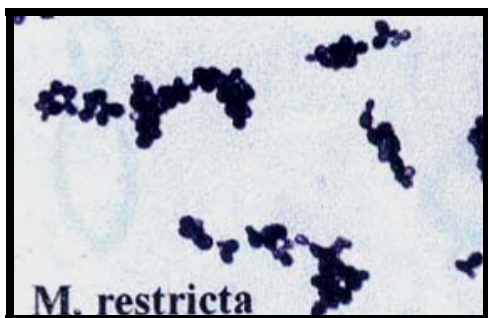
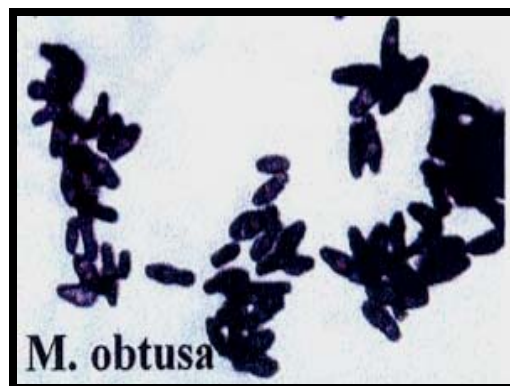
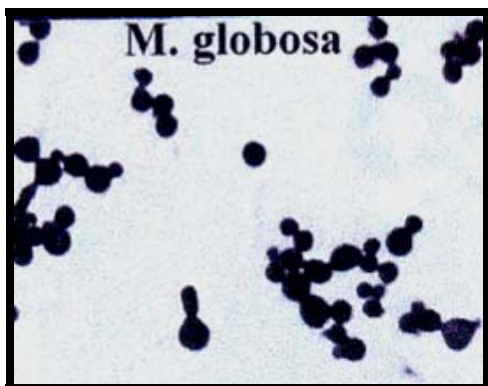
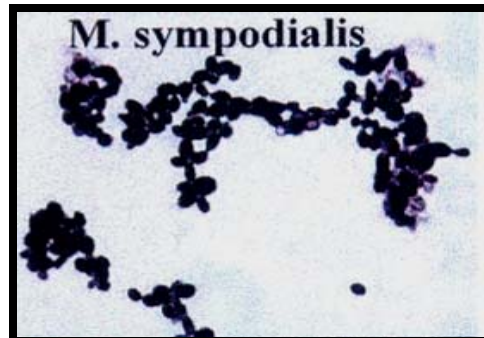
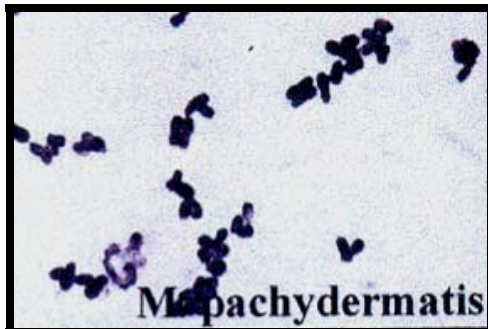
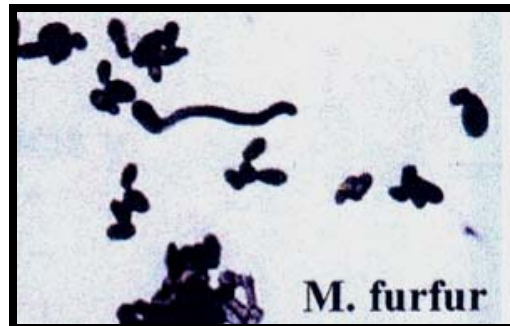
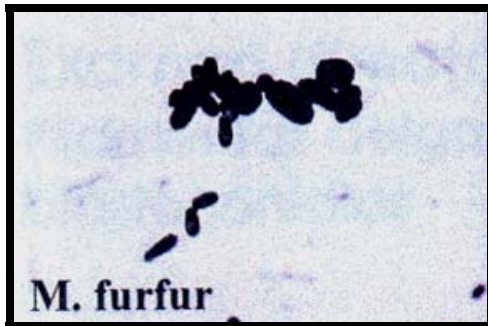
Especies de <i>Malassezia</i>	Sitios aislados
<i>M.symphodialis</i>	Pitiriasis versicolor y pieles sanas
<i>M.dermatis</i>	Dermatitis atópica
<i>M.equi</i>	Caballos, ano
<i>M.nana</i>	Otitis externa, gatos
<i>M. restricta</i>	Dermatitis seborreica piel cabelluda, piel sana
<i>M.globosa</i>	Pitiriasis versicolor, dermatitis seborreica
<i>M.slooffiae</i>	Dermatitis seborreica facial, pitiriasis versicolor
<i>M. furfur</i>	Dermatitis seborreica, pitiriasis versicolor, piel sana, pieles de neonatos, catéter
<i>M.yamatoensis</i>	Dermatitis seborreica
<i>M.japonica</i>	Piel sana (mujer japonesa)
<i>M.obtusa</i>	Dermatitis atópica
<i>M.caprae</i>	Oído externo
<i>M.pachydermatis</i>	Perros, gatos, oído externo

(25)

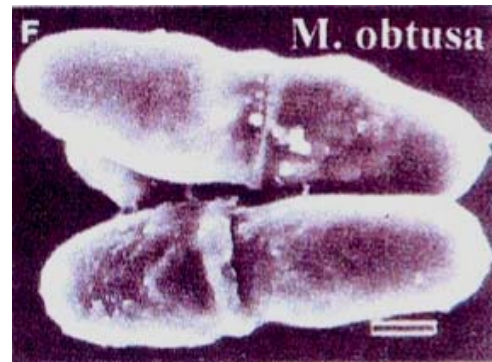
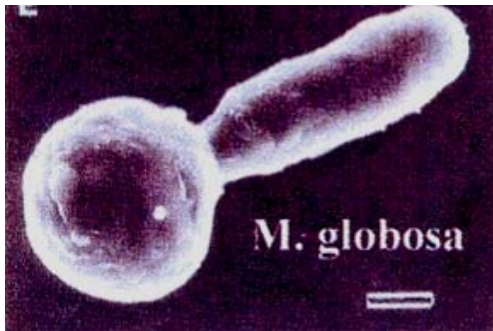
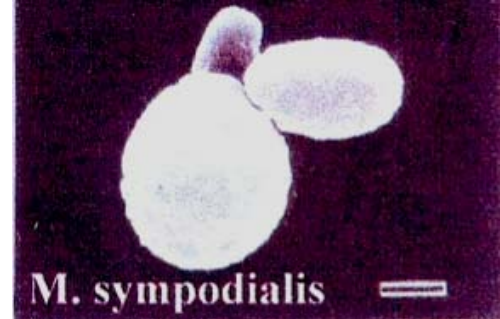
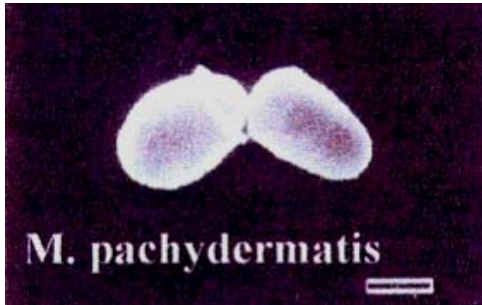
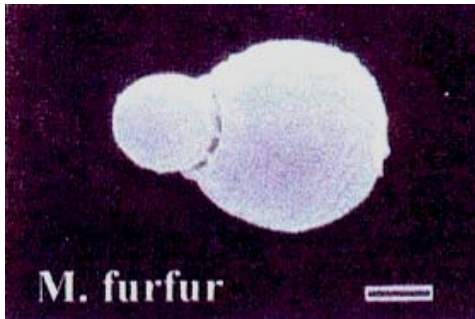
Características micromorfológicas

Características	Forma y tamaño	Patrón de brotación
<i>M.furfur</i>	Cilíndricas, ovales (1,5-3x2,5-8um)	Base brotación ancha
<i>M.sympodialis</i>	Ovoides, globosas (1,5-2,5x2,5-6um)	Brotación simpodial, base más estrecha
<i>M.pachydermatis</i>	Ovoides (2-2,5x4-5um)	Base de brotación ancha, cicatriz pronunciada
<i>M.slooffiae</i>	Cilíndricas (1-2x1.5-4um)	Base brotación ancha
<i>M.globosa</i>	Esférica (2,5-8um)	Base de brotación estrecha
<i>M.restricta</i>	Esféricas a ovales	Base brotación estrecha
<i>M.obtusa</i>	Cilíndricas (1,5-2x4-um)	Base de brotación ancha

(26)



Morfología de las distintas especies de *Malassezia* por microscopía de luz (Tinción con Gram)



Morfología de las especies de *Malassezia* por microscopía electrónica (32)

Clasificación taxonómica

Malassezia pertenece a la división *Basidiomycota*, Clase: *Heterobasidiomycetes*, Orden: *Filobasidiales*, a la familia *Criptococcaceae*, al género *Malassezia*. Comprende levaduras que se reproducen por blastoconidios. Son gram positivos, resistentes a los antisépticos y antibióticos tópicos.

Requerimientos lipídicos

Se ha demostrado un bloque en la capacidad del organismo para sintetizar ácidos grasos saturados de C12 a C16 por lo que debe haber fuentes exógenas en el medio de cultivo para que haya crecimiento de *Malassezia*. Porro y cols. en su estudio sugirieron que la síntesis de estos ácidos se presentan probablemente a nivel mitocondrial.

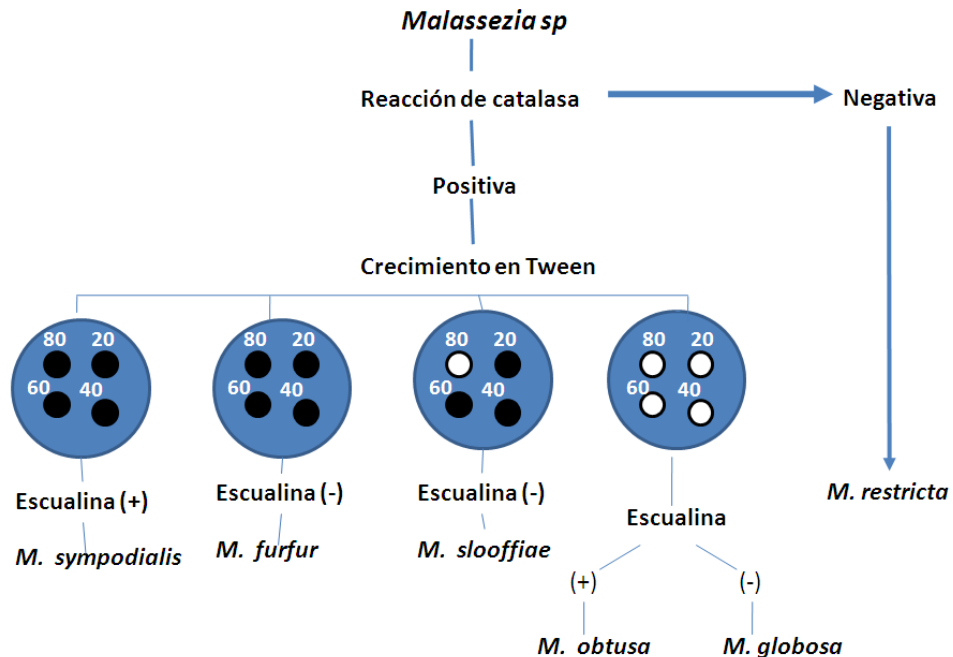


Diagrama de flujo que demuestra la capacidad de las especies de *Malassezia* para la utilización de Tween como única fuente de lípidos

Actividad lipasa

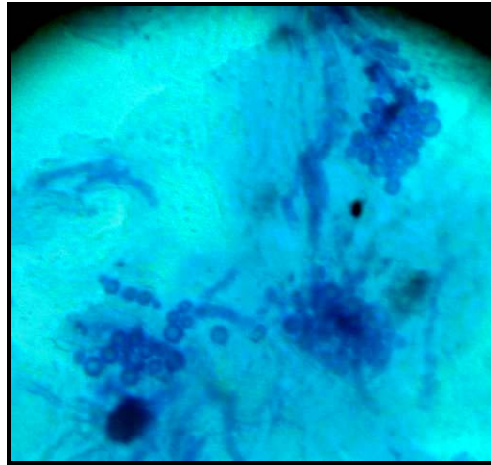
Algunos trabajos recientes, confirman la existencia de lipasas hidrolasas en la pared de las células de *Malassezia*, las cuales permiten su desarrollo en medios de cultivos que contienen suplementos de triglicéridos, dando lugar a la formación de ácidos grasos libres al crecer el hongo. Además, se ha observado que *Malassezia* puede liberar in vitro, ácidos grasos libres, triglicéridos del sebo. Otros autores refieren que sólo contribuye a la formación de ácidos grasos libres cuando la población de *Propionibacterium acnes* ésta de manera natural o por el uso de antibióticos.

Actividad antifúngica

Se ha reportado actividad antifúngica en contra de una variedad de hongos dermatofitos. Weary observó que *Malassezia* elabora una sustancia soluble en cloroformo y ácidos grasos libres los cuales tenían capacidad antifúngica.

Estudio micológico

En el examen directo se observan levaduras redondas, ovals o esféricas de 4 a 8 u y algunas gemantes, en acúmulos o racimos y filamentos cortos, sinuosos en forma de S itálica de 2 a 4 u; ambos elementos puede presentarse independiente y si lo hacen juntos dan la imagen típica de “albóndigas y espagueti”.



Levaduras grandes y redondas, entremezclados con filamentos cortos y gruesos, imagen típica de “albóndigas y espagueti” (Pityriasis versicolor)

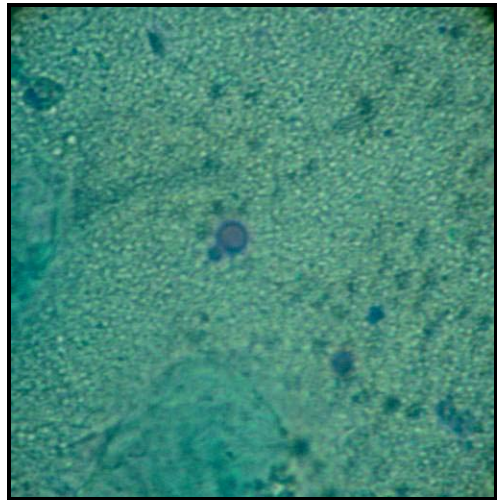
Las estructuras fúngicas pueden observarse fácilmente si se agrega en parte iguales tinta Parker azul, ó una mezcla de azul de metileno a 50%, con ácido acético a 5%.

La tinción de Albert tiene la ventaja de que dichas estructuras se tiñen de color púrpura y nos permite visualizarlas mejor. Es una técnica rápida, efectiva y fácil de realizar, que consiste en colocar una cinta adhesiva transparente sobre la lesión, posteriormente ésta se desprenda y coloca con el adhesivo hacia abajo en una lámina portaobjeto; se ponen dos gotas de solución de Albert en el borde de la cinta, las que se deslizan por debajo de la misma, tiñéndose de ésta manera las hifas y levaduras, resultado fácil su identificación. Los componentes de la solución de Albert son: azul de toluidina 0.125 grs, verde malaquita 0.2gr, ácido acético glacial 1ml, etanol 95% 2ml y agua destilada 110ml. Serrano y cols., realizaron un estudio en pacientes con pitiriasis versicolor demostraron que la solución de Albert es un método alternativo para teñir los elementos fúngicos.

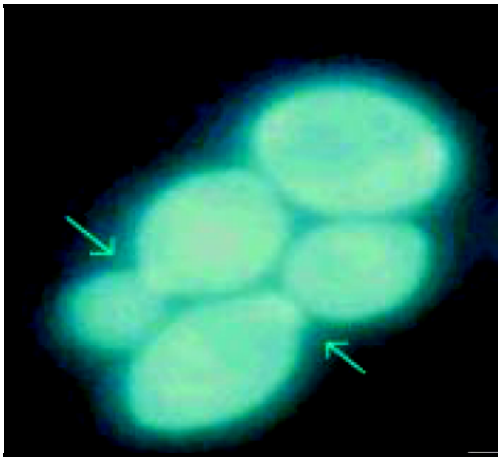
Una técnica sencilla y fidedigna es la biopsia de superficie con cianoacrilato y tinción de PAS. Otras preparaciones que se pueden utilizar son: la tinción de Gram, KOH, el negro de clorazol o el blanco de calcoflúor.



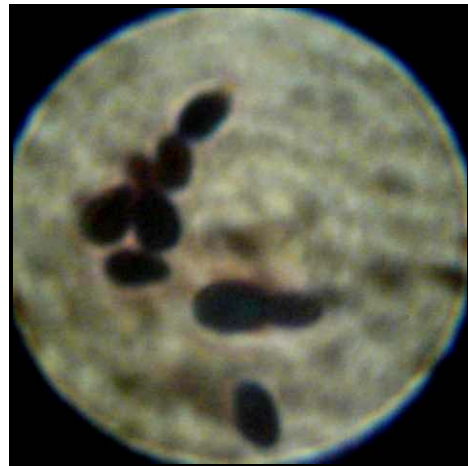
Tinción azul Parker



Tinción Albert



Blanco Calcoflúor



Tinción Gram

Cultivo

En algunos estudios se realizaron cultivos de *Malassezia* los cuales utilizaron diferentes sustancias como lanolina, ácido oleico, lecitina, ácido oleico y linoleico, aceite de hígado de bacalao, ácido aráquidónico solo o con estrógenos y andrógenos, vitaminas solubles en grasas, sebo humano, vérmix caseoso, etc., pero en ninguno de los medios se apreció crecimiento continuo y satisfactorio.

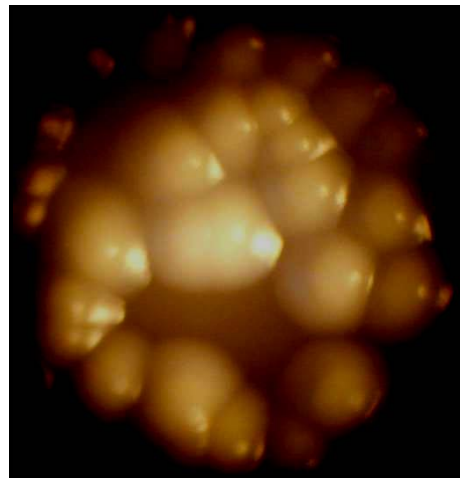
Para el cultivo de *Malassezia* se utilizan de preferencia el medio Sabouraud con cloramfenicol y ciclohexamina adicionado con aceite de oliva al 10%, o con aceite de girasol, maíz, etc. Actualmente se prefiere por la mayoría de los investigadores el medio Dixon (que contiene 36% extracto de malta, 0.6% de peptona, 2% Oxoi, 0.1% de Tween 40, 0.2% de glicerol, 0.2% de ácido oleico, agar 1.2%, pH 6.0). Con excepción para *M. pachydermatis* que crece en medio de rutina, las demás especies de *Malassezia* tiene requerimientos absolutos de lípidos, que se puede obtener incluyendo en el medio ácidos grasos de cadenas largas. Se ha usado medios efectivos como agar microbiótico o extracto de malta, adicionados con aceite de oliva o ácido oleico, ó el monoesterato de glicerol, Tween, y lípidos presentes en las sales biliares y leche de vaca. Guého utiliza el medio descrito por Leeming y Notman, el cual contiene, entre otros ingredientes, aceite de buey, glicerol, monoesteorato de glicerol, Tween 60, y leche entera de vaca.

En los medios de cultivo resulta difícil la obtención de la fase filamentosa, apareciendo generalmente sólo esbozos de filamentos. Randjandiche logra obtener filamentos largos en medio de Sabouraud con aceite de oliva; y Nazzaro-Porro utilizando medios que contienen colesterol y ésteres de colesterol.

Las colonias de *Malassezia* son blanco-amarillentas, cremosas y frágiles. El pH es de 5.5 a 8.7 y se desarrolla en 6 y 8 días aproximadamente. La morfología del género *Malassezia* ha sido descrita in vitro basada en cultivos obtenidos del medio Dixon modificado. *M. furfur* tiene colonias convexas, lisas con variantes rugosas. *M. sympodialis* da colonias planas o ligeramente convexas. *M. pachydermatis* da colonias convexas de superficie lisa, a veces es ligeramente rosada. *M. globosa* produce colonias de crecimiento lento, plegadas, correspo. *M. slooffiae* presenta colonias finamente plegadas.



**Cultivo en medio Dixon modificado
(Técnica de cristales)**



**Colonias blanco- cremosas
(Microscopio de barrido)**



Colonias típicas de *Malassezia sp.* en Dixon modificado

***Malassezia* como parte de microbiota cutánea**

La piel del recién nacido es generalmente estéril, excepto por la flora transitoria genital de la madre. Las bacterias aparecen entre las primeras horas de vida, y es el *Estafilococo epidermidis* el más común. La edad en la cual la piel del recién nacido se coloniza con *Malassezia* es motivo de debate en la literatura. Muchos de los datos han sido derivados de estudios de porcentajes de colonización en infantes prematuros en unidades de cuidados intensivos. El aumento en la colonización observado durante los primeros meses de vida probablemente refleja la actividad de la glándula sebácea durante este período.

Existen estudios que demuestran la presencia de *Malassezia* en los niños. Algunos autores comunican porcentajes del 7% en los recién nacidos y otros hasta el 87% con mayor positividad en los exámenes directos en lactantes de 2 a 23 meses y en mayores de 9 años. Leeming y cols. encontraron *Malassezia* en el

pabellón auricular de los recién nacidos hasta cerca del mes de edad, Esto probablemente tenga relación con las madres que tienen hasta el 70% de colonización por *Malassezia*.

Otros estudios demuestran que la colonización de *Malassezia* es progresiva. Koseki y Takahashi encontraron *Malassezia* en el 50% en el primer día de vida y en el 80% al séptimo día de vida; otros autores comunican altos porcentajes de colonización por *Malassezia* en recién nacidos en UCI. Aumenta esta en un 40 a 100% entre primer y el tercer mes de vida. Ruiz-Maldonado y cols. obtuvieron *Malassezia furfur* en niños sanos de 1 a 12 meses de edad en 53% de los casos.

La colonización de *Malassezia* en adultos sanos es del 35 al 100%, con una media del 90%. El grado de variabilidad en los reportes de colonización en los individuos sanos, con dermatosis y entre diferentes países pueden ser explicado por las técnicas empleadas en los estudios, incluyendo sitio de toma de muestras y edades de la poblaciones estudiadas.

Se encuentran en zonas con gran cantidad de glándulas sebáceas, como piel cabelluda, frente, pliegues nasolabial, oído externo, pecho y espalda; su presencia aumenta con la edad, especialmente en la pubertad. Faergeman y Fredriksson realizaron un estudio donde se determinó la edad de incidencia de *P. orbiculare* y *P. ovale* en piel humana y no encontraron *P. orbiculare* en menores de 5 años pero si hasta un 93% en niños de 15 años. Cuando el cultivo de un recién nacido fue positivo, se considero que la madre la había “transmitido” dicha levadura, de la cual era portadora. Roberts realizó un estudio sobre la distribución

de *P. orbiculare* en la piel normal y encontró exámenes directos positivos en cabeza y tronco en comparación con el resto del cuerpo.

En otro estudio de Roberts identificó a *P. ovale* en la piel cabelluda en el 97% y sobre el pecho del 92 a 100% de los adultos sanos. Leeming y cols. demostraron que la densidad de población de *M. furfur* fue más alta en regiones seborreicas y fueron capaces de cultivar *Malassezia* de 20 sitios diferentes del cuerpo, siendo más frecuente en la piel cabelluda y parte superior del tronco.

Las especies del género *Malassezia spp* las podemos recuperar en la piel sana en su fase de levadura en el 97% y el 5% puede ser aislado en su fase micelial. Se obtiene con una frecuencia ligeramente mayor en hombres sanos que en mujeres. Los cultivos tienden a disminuir con el incremento de la edad y se correlaciona con la disminución del contenido de lípidos de la epidermis.

Recientemente se ha comunicado que *M. sympodialis* y *M. globosa* son las especies más frecuentemente aisladas en el adulto. Guého y cols. revisaron la ecología de todas las especies de *Malassezia* y concluyeron que *M. sympodialis* fue la especie más común en piel sana y en piel enferma, mientras *M. slooffiae*, aislada primero de animales, se encontró ocasionalmente sobre piel humana. *M. globosa* se obtuvo de las lesiones de pitiriasis versicolor y dermatitis seborreica, *M. restricta* ha sido aislada, usualmente asociada con otras especies, de la piel de cara y piel cabelluda sana. *M. obtusa* estuvo presente en piel humana en pocos casos, como *M. furfur* se aisló en un porcentaje bajo tanto en pieles sanas como en enfermas. (31,32,33,34,35,36,37)

Factores predisponentes

Los siguientes se consideran factores predisponentes para que se presente una dermatosis o una infección sistémica por *Malassezia*.

- a) Factores exógenos: aumento de la temperatura y la humedad en la piel, aplicación de aceites o lubricantes en la piel, hospitalización, administración de glucocorticoides sistémicos, alimentación parenteral con lípidos a través de un catéter intravenoso, uso de anticonceptivos, uso de vendajes oclusivos, uso de prendas sintéticas y la convivencia con una persona adulta que sea portadora de dicha levadura.
- b) Factores endógenos: predisposición genética, prematurez, bajo peso al nacer, la producción del sebo sobre todo menores de un año y en la pubertad, embarazo, desnutrición, inmunodeficiencia, personas transplantadas, síndrome de Cushing, infecciones crónicas, hiperhidrosis y una piel alterada con daño en su barrera.

En la dermatitis seborreica se han mencionado como factores importantes la composición del sebo y el aumento de la alcalinidad cutánea.

Se han realizado estudios para investigar los factores que hacen que *Malassezia* actúe en algunas personas como patógenas y en otras se mantengan como saprobio. Weary sugería que algunas cepas de *P. orbiculare* mostraban una mayor tendencia a la transformación micelial y que estas podían ser capaces de producir pitiriasis versicolor en un sujeto susceptible, debido a que sabemos actualmente que *M. globosa* tiene la capacidad de filamentar. También se mencionó alteraciones en los ácidos grasos cutáneos y una disminución de la eustratinización con el calor, ya que se ha visto que en el 32% de la población de los

países tropicales padecen esta dermatosis. Se ha comunicado alteraciones en la inmunidad mediada por células lo que puede favorecer la enfermedad. En dermatitis seborreica se ha especulado que el hongo activa la vía alterna del complemento y ocasiona inflamación y recambio epitelial excesivo al igual que en otras dermatosis inflamatorias.^(38,39,40)

***Malassezia sp* como patógeno**

Existen comunicaciones de algunos casos en recién nacidos con pitiriasis versicolor a los 12 días de nacidos, 14 días, 29 días y 3.5 meses. En República dominicana se realizó un estudio retrospectivo de 5160 casos de pitiriasis versicolor, donde se encontraron 797 casos en menores de 15 años, de los cuales 92 fueron en lactantes.

Se han publicado datos sobre la densidad de población de levaduras, en lesiones clínicas de pitiriasis versicolor, dermatitis seborreica, pitiriasis capitis y piel sana. Bergbrant y Faergemann no encontraron diferencias en la densidad de *Malassezia* en lesiones de dermatitis atópica y de la piel sana. Mc Ginley y cols. reportaron una mayor densidad de *Malassezia* en pitiriasis capitis y pitiriasis versicolor que en la piel normal. Heng y cols. demostraron que la densidad de *Malassezia* no fue significativamente más alta en lesiones de dermatitis seborreica que en piel normal y que el número de levaduras puede relacionarse con la severidad de la enfermedad.

La densidad de población de *Malassezia restricta* fue 10 veces más alta en las lesiones de dermatitis seborreica que en la piel normal. *M. pachydermatis* es

usualmente aislado de piel, mucosas de perros y gatos sanos, puede causar dermatitis crónica, otitis externa e infecciones nosocomiales en humanos.

Las especies de *Malassezia* bajo la influencia de factores predisponentes pueden volverse patógenas y estar asociadas con varias enfermedades tales pitiriasis versicolor, foliculitis, blefaritis, dacriocistitis, dermatitis seborreica, papilomatosis reticulada y confluyente, psoriasis, pustulosis neonatal, e infecciones sistémicas en recién nacidos de bajo peso con alteraciones inmunológicas y en adultos inmunocomprometidos quienes han recibido infusión parenteral con lípidos. *Malassezia* también puede ocasionar peritonitis en enfermos sometidos a diálisis. (41,42,43,44,45)

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

JUSTIFICACIÓN.

Las levaduras del género *Malassezia* constituyen parte de la microbiota cutánea, sin embargo su participación en la génesis de la dermatitis seborreica es motivo de controversia, así como la forma en que interactúan la resistencia del huésped condicionada por diversas enfermedades intercurrentes; así como la presencia de estas levaduras determinan su severidad . Algunos autores han publicado resultados variables sobre la densidad de levaduras del género *Malassezia* en lesiones de dermatitis seborreica, solo se ha establecido que esta levadura se encuentra en áreas cutáneas de mayor riqueza en glándulas sebáceas, pero no se han realizado estudios donde se demuestre su presencia en los pacientes con de dermatitis seborreica. Es importante determinar la especie de *Malassezia*, ya que en el momento actual se han identificado trece y cada una de ellas se correlacionan con diferentes patologías en forma única ó asociadas.

El papel de *Malassezia* en la dermatitis seborreica es motivo de controversia algunos autores niegan su participación, en tanto que otros refieren que es el agente causal. Esta dermatosis es de origen multifactorial, donde *Malassezia* puede o nó estar presente. Consideramos importante determinar la presencia y frecuencia de *Malassezia*, en pacientes con dermatitis seborreica, en comparación con pacientes sanas y su relación con el aspecto clínico. Por lo tanto se realiza la siguiente pregunta y se plantean los siguientes objetivos:

¿ Cual es la frecuencia de *Malassezia spp*, en pacientes adultos de 18 a 70 años de edad que acudieron al Centro Dermatológico Pascua con dermatitis seborreica facial de reciente diagnóstico y que no hayan recibido tratamiento previo, en comparación con personas sanas ?

Hipótesis:

Malassezia globosa es la especie más frecuentemente aislada en pacientes con dermatitis seborreica facial comparada con pacientes sanos.

Objetivo general:

Determinar la colonización y tipificación de *Malassezia spp*, en piel de la cara de pacientes con Dermatitis Seborreica (DS) de 18 a 70 años de edad que acudieron al Centro Dermatológico Pascua en el período comprendido entre el 1 de febrero y 30 de junio del 2007; en forma comparativa con personas sanas de mismo rango de edad.

Objetivos específicos:

- 1.- Comparar la frecuencia de las distintas especies de *Malassezia* en el grupo de pacientes con DS y personas sanos.
- 2.- Determinar si existe correlación entre la densidad de *Malassezia spp* y la severidad del cuadro.

- 3.- Determinar si la DS en la que se identifique *Malassezia* tiene alguna relación con enfermedades asociadas.
- 4.- Determinar la importancia del examen directo y cultivo en medio de Dixon modificado para la identificación de *Malassezia spp*

Material y métodos:

Tipo de estudio

Descriptivo, prospectivo, transversal, comparativo.

Tamaño de muestra:

Para el cálculo se consideraron muestras del mismo tamaño con una estimación del 5% de la población afectada con dermatitis seborreica asociada a *malassezia*, bajo las siguientes consideraciones:

$Z_{\alpha} = 1.96$.- Riesgo α del 5%, para una prueba bilateral

$Z_{\beta} = 0.842$.- Potencia de la prueba β del 80%

$d = 0.15$.- Valor mínimo de la diferencia que se desea detectar

$$N = \frac{2p(1-p)(Z_{\alpha} + Z_{\beta})^2}{d^2}$$

$$N = \frac{2(0.05)(1-0.05)(1.96+0.842)^2}{(0.15)^2}$$

N = 50 pacientes por cada grupo

METODOLOGÍA

Se incluyeron a todos los pacientes mayores de 18 años de edad que acudieron a consulta por primera vez al Centro Dermatológico Pascua, con lesiones clínicamente compatibles con dermatitis seborreica (DS) que no hubieran recibido tratamiento antimicótico oral ó tópico un mes antes ó quince días a la toma de la muestra. Previa firma de la carta de consentimiento informado se registraron los datos del paciente y se realizó historia clínica dirigida, donde se incluyo la ficha de identidad, morfología, topografía de las lesiones, factores predisponentes incluyendo trastornos psicológicos principalmente depresión y ansiedad, se tomo en cuenta el tipo de alimentación de esta se incluyo dos rubros, la alimentación deficiente refiriéndose a la falta de ingesta de cualquiera de los alimentos esenciales (carbohidratos, lípidos, proteínas) y buena alimentación (ingesta de todos los alimentos esenciales); También se interrogo acerca de las enfermedades asociadas descritas en la literatura que tiene relación con el padecimiento. Todos los pacientes fueron examinados por el mismo médico para mantener un criterio uniforme. Se tomó control iconográfico y se realizó una solicitud de estudio micológico.

Se incorporaron al grupo los pacientes con lesiones en cara clínicamente compatibles con dermatitis seborreica y se definió la siguiente escala:

0 = Sin lesiones.

1 = Leve: escama o eritema leve.

2 = Moderada: eritema y escama moderada.

3 = Severa: eritema y escama abundante.

En el servicio de micología se registró a los pacientes y se les asignó un número.

Se obtuvieron muestras de todos los pacientes examinados con cinta adhesiva para el estudio directo, así como raspado con hoja de bisturí estéril para el cultivo en medio de Dixon modificado, se eligieron las zonas más comprometidas de la cara.

1.- Examen directo microscópico: se realizó en las escamas obtenidas por medio de la cinta adhesiva y se le aplicó tinta Azul Parker y/o solución de Albert y para ser observadas en microscopio de luz, realizar la búsqueda de las estructuras fúngicas, a sí como hacer el recuento por campo y se aplicó la siguiente escala:

0 = sin levaduras por campo.

(+) = 1 a 4 levaduras por campo.

(++) = 5 a 10 levaduras por campo.

(+++)= sobre 11 levaduras por campo.

La micromorfología con microscopio de luz también se consideró en la identificación, ya que nos permite identificar estructuras características, como en el caso de la típica forma de la *M. globosa* que se observa como una levadura grande redonda a si como la presencia de filamentación y en ciertos casos se puede observar una gema larga tubular que la caracteriza y la otra forma típica es la de *M. restricta* que se observa una levadura pequeña gema redonda . En otras especies, como la *M furfur*, puede tener formas variables y la característica forma

de botella puede presentar variaciones esféricas, ovoides o cilíndricas, difíciles de reconocer y cuya interpretación es dependiente del examinador.

2.- Cultivo: las escamas que se obtuvieron se sembraron en la superficie de un medio de Dixon modificado (3,6% extracto de malta, 0,6% peptona, 2,0% bilis de buey, 1% Tween 40, 0,2% glicerol, 0,2% ácido oleico, 1,2% agar pH6) y se incubaron con a temperatura de 32°C por 7 días.

3.- Identificación: Los cultivos obtenidos en el laboratorio de micología del Centro Dermatológico Pascua, fueron enviados al laboratorio de micología de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) para la realización de la identificación de las especies de *Malassezia*. Las colonias fueron sometidas a las siguientes pruebas fisiológicas: reacción de catalasa, desdoblamiento de la esculina, y capacidad de utilizar Tween 20, 40, 60, 80 como única fuente de lípidos y también se realizó tinción de Gram para observar la morfología.

Reacción de catalasa: se determinó aplicando una gota de agua oxigenada de 10 volúmenes en una preparación subcultivada en un portaobjetos. El resultado será positivo (+) si se forman burbujas de gas.

Desdoblamiento de esculina: se cultivaron lavaduras en un medio con esculina , la reacción positiva (+) correspondera al viraje a negro de la esculina al desdoblarse ésta en esculina y glucosa.

Crecimiento en Tween: a 16ml de Sabouraud dextrosa agar estéril se agregó una suspensión de las levaduras en 1ml de agua destilada estéril. La suspensión se aplicó en placas de petri de 9cm de diámetro; una vez solidificado el medio se hicieron 4 orificios de 2mm y se lleno con Tween 20,40,60,80, respectivamente. Se

incubaron las placas a 32°C por una semana, posteriormente de lo cual se examinaran con lupa las zonas de desarrollo o inhibición.

De esta manera se identificaron las especies de *Malassezia* correspondientes.

Aspectos éticos:

A cada paciente se le explicó en qué consistía el estudio y se solicitó que firmaran una carta de consentimiento. De la cual se le proporcionó una copia.

Los pacientes con dermatitis seborreica que se incluyeron en el estudio deberán continuar su seguimiento en el consultorio que les corresponde.

Criterios de inclusión:

Grupo de estudio:

- 1.- Pacientes que acuden al CDP con diagnóstico de DS, con cualquier grado de severidad de la DS.
- 2.- Mayores de 18 años y menores de 70 años.
- 3.- Ambos sexos.
- 4.- Personas que firmen la carta de consentimiento de su ingreso al protocolo de estudio.

Grupo control:

- 1) Adultos sin lesiones
- 2) Mayores de 18 años
- 3) Ambos sexos
- 4) Adultos que firmen las carta de consentimiento de su ingreso al protocolo

Criterios de exclusión:

- 1.- Pacientes con tratamientos a base de esteroides o antimicóticos 2 semanas previas.
- 2.- Pacientes que no acepten ingresar al protocolo de estudio.

Criterios de eliminación:

- 1.- Pacientes que no acudan a su cita para la toma de muestra
- 2.- Personas que no cooperen con la toma de muestra.
- 3.- Pacientes que deciden retirarse del estudio antes de completar la recolección de datos.

Definición de variables:

Variables independientes

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Escala	Unidad de medida
Examen directo	Observación directa al microscopio de una muestra de piel	Muestra obtenida con la cinta adhesiva y aplicación de solución de Albert y tinta azul Parker	Ordinal	0= sin levaduras por campo (+) = 1 a 4 levaduras por campo (++) = 5 a 10 levaduras por campo (+++) = sobre 11 levaduras por campo

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Escala	Unidad de medida
Cultivo	Cultivo de una muestra de piel bajo condiciones controladas y en un medio adecuado	Cultivar la muestra en medio Dixon modificado (3.6% extracto de malta, 0.6 peptona, 2.0% bilis de buey, 1% Tween 40, 0.2 ácido oleico, 1.2% agar pH6)	Nominal	Colonias blanco amarillentas cremosas, reacción de catalasa, desdoblamiento de escualina, crecimiento en Tween
Colonización por <i>Malassezia</i>	Presencia de blastoconidios filamentos cortos o colonias cremosas blanco-amarillentas	Examen directo de muestra de piel con cinta adhesiva de la lesión o cultivo	Nominal	Positivo ó negativo

VARIABLES DEPENDIENTES

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Escala	Unidad de medida
Edad	Tiempo que una persona ha vivido desde su nacimiento	Edad en años en el momento del estudio	Continua-proporcional	Años
Sexo	Constitución orgánica que distingue masculino y femenino	Se registra con base al sexo de asignación social	Nominal	Femenino Masculino
Topografía	Sitio anatómico referido del cuerpo	Sitio anatómico en el que se toman las muestras	Nominal	Centrofacial

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Escala	Unidad de medida
Dermatitis seborreica (DS)	Desorden dermatológico común de afección crónica y períodos de mejoría y exacerbación, relacionados con otras afecciones de la unidad pilosebácea, una etiología no totalmente clara	Observación clínica de las lesiones características 0 = sin lesiones,	Nominal	Presente Ausente
Severidad de la DS	Grado de afección de la piel	1 = leve descamación o eritema escaso, 2 = moderado eritema y descamación en regular cantidad, 3 = severo eritema y descamación adundante	Ordinal	1 2 3
Antecedentes personales patológicos	Existencia de enfermedades de alguna naturaleza con aparición en fecha previa a la consulta de primera vez	Interrogatorio dirigido en busca de enfermedades previas a la cita de primera vez, remitidas o aún existentes	Nominal	Presentes Ausentes

Plan de análisis:

Análisis descriptivo

Los datos obtenidos de las diversas variables involucradas en el estudio se analizaron a través de medidas de tendencia central y medidas de dispersión.

Los resultados de las variables estudiadas se presentaron por medio de proporciones o porcentajes, tablas de contingencia, gráficas de barra y pastel.

Análisis estadístico

Como las observaciones del estudio corresponden a casos y controles donde la medición se realizó en escala nominal con valores dicotómicos, la prueba de elección para comprobar las hipótesis establecidas es la χ^2 (chi cuadrada), con una probabilidad de error menor de 5% y dos grados de libertad.

RESULTADOS

Se estudiaron 100 pacientes adultos, 50 con diagnóstico de dermatitis seborreica facial de reciente diagnóstico y 50 con piel aparentemente sana, para la identificación y tipificación de las distintas especies de *Malassezia*.



Casos (n=50)

Pacientes con Dermatitis seborreica facial



Controles (n=50)

Sujetos con piel aparentemente sana

Características socio demográficas

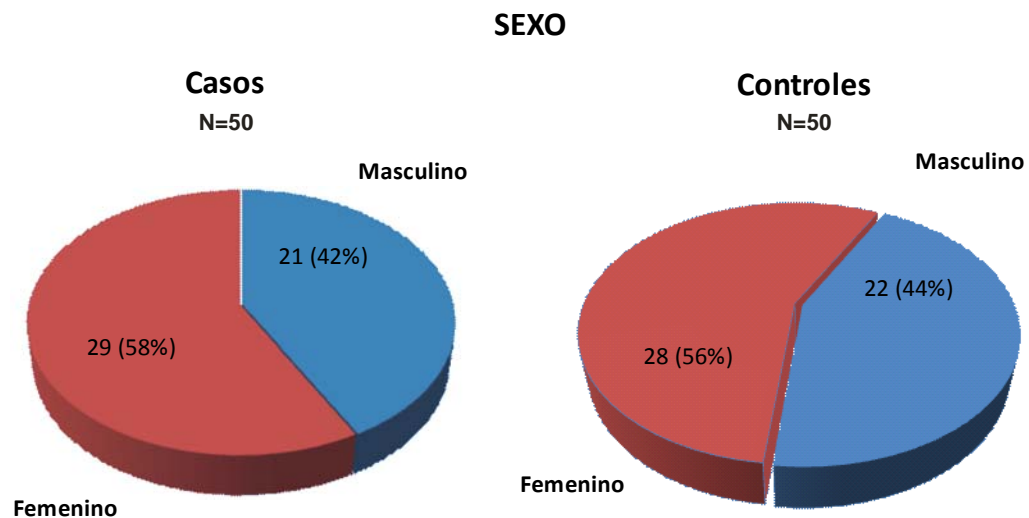
Sexo:

Se observó un ligero predominio de las mujeres en relación a los hombres en ambos grupos estudiados, con una relación de 1:1.3, en los pacientes con dermatitis seborreica 29(58%) correspondieron al sexo femenino y 21(42%) al masculino.

Tabla 1. Clasificación por sexo

Sexo	Casos n=50	%	Controles n=50	%
Masculino	21	42%	22	44%
Femenino	29	58%	28	56%

$\chi^2=0.041$, $P=0.840$



Gráfica 1

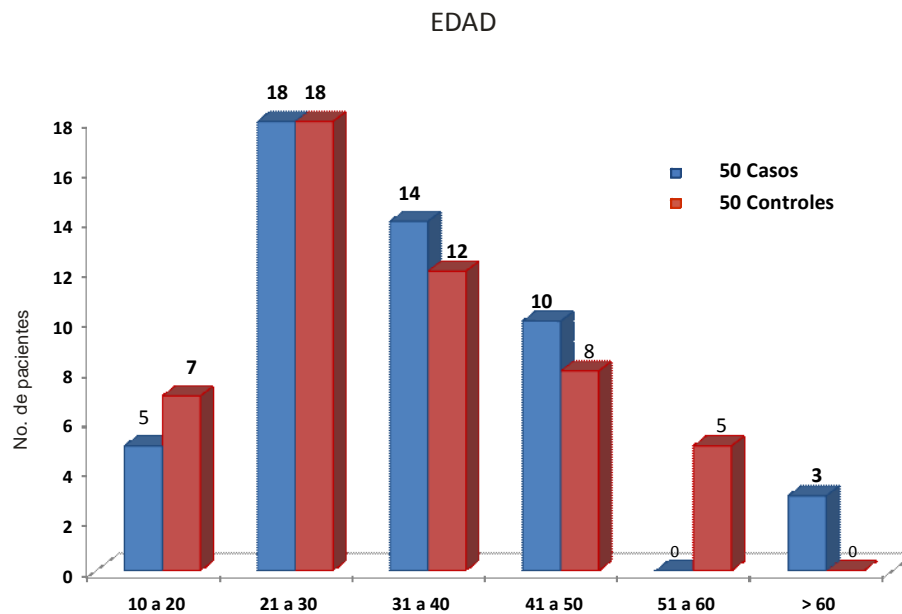
Edad:

En relación a la edad, el promedio fue de 34 años, el paciente de menor edad fue 18 y el de mayor de 73 años muy similar al grupo control con un promedio de 33 años y un rango de 18 a 57 años; el 46% de los pacientes tenían entre 18 a 30 años y el 54% eran mayores de 30.

Tabla 2.- Clasificación por grupos de edad

Edad	Casos n=50	%	Controles n=50	%
10 a 20	5	10%	7	14%
21 a 30	18	36%	18	36%
31 a 40	14	28%	12	24%
41 a 50	10	20%	8	16%
51 a 60	0	0%	5	10%
> 60	3	6%	0	0%

$\chi^2 = 8.7$, $P = 0.121$



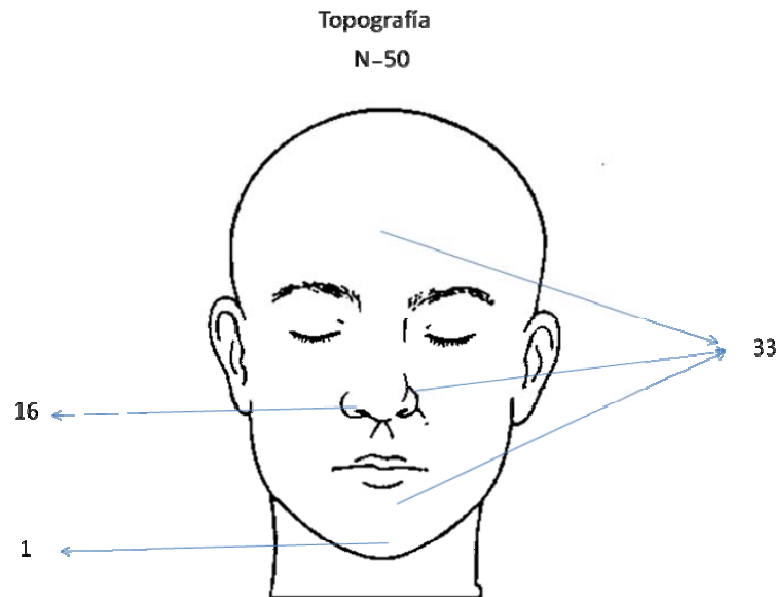
Gráfica 2

Topografía:

La región centro facial fue la más afectada en 33 pacientes, que corresponde al 66%, el pliegue nasogeniano con una frecuencia de 16 casos (32%) y en un solo caso el mentón se encontraba afectado (2%).

Tabla 3 Topografía de las lesiones

Descripción	Casos	%
Centro facial	33	66%
Pliegue naso geniano	16	32%
Mentón	1	2%
Total	50	100%



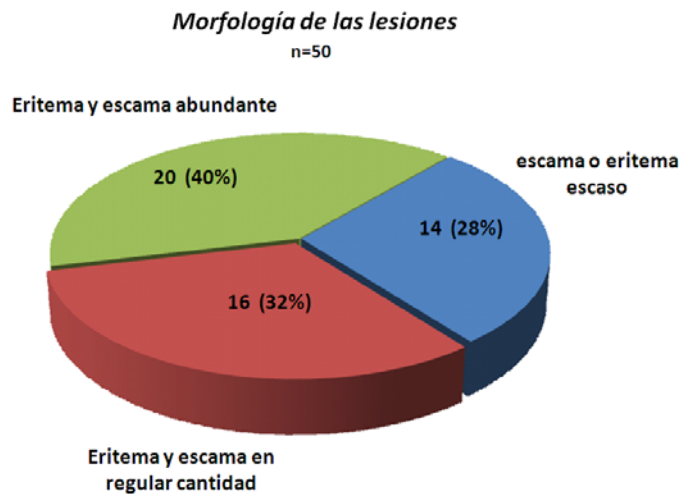
Gráfica 3

Morfología:

En 20 pacientes (40%), predominó el eritema y escama abundante, la forma moderada se presentó en 16 casos (32%), y la leve en 14 (28%).

Tabla 4.- Morfología de las lesiones

Descripción	Casos n=50	%
Leve - Descamación y/o eritema escaso	14	28%
Moderado - Eritema y escama en regular cantidad	16	32%
Severo - Eritema y escama abundante	20	40%



Gráfica 4



Cuadro clínico severo



Cuadro clínico moderado



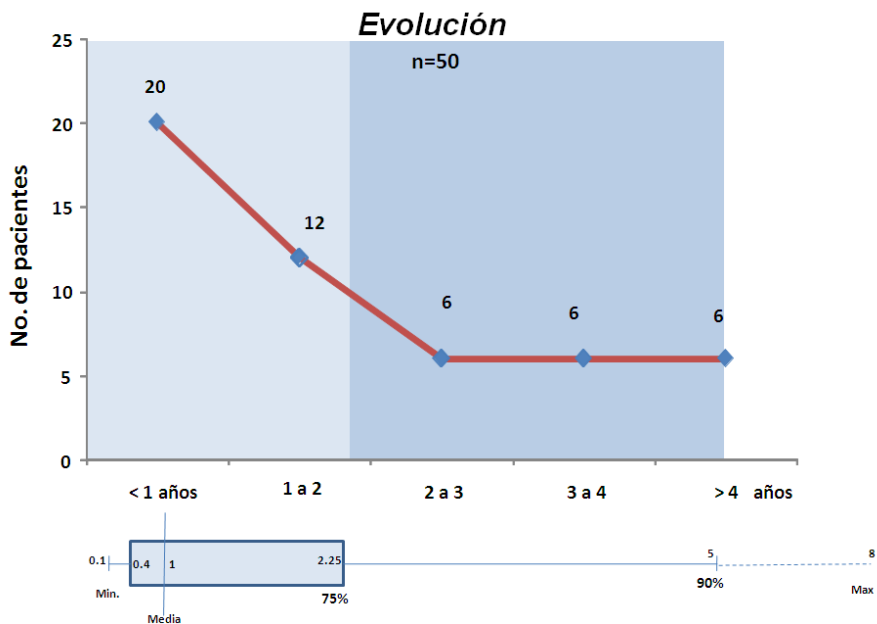
Cuadro clínico leve

Evolución:

El tiempo de evolución en promedio fue de 1.8 años, con un rango de 1 mes a 8 años; en 20 pacientes (40%) correspondió a menos de un año y en 12 casos (24%) la evolución fue entre uno y 2 años.

Tabla 5.- Evolución

Evolución	Casos	%
< 1 años	20	40%
1 a 2	12	24%
2 a 3	6	12%
3 a 4	6	12%
> 4	6	12%
	50	100%



Fuente: Archivo clínico del CDP

Gráfica 5

Enfermedades asociadas

La mayoría de los pacientes (88%) no tenían ninguna enfermedad de base, el 4% tuvo antecedentes de hipertensión arterial, el resto refirió enfermedades de tipo agudo, como infecciones respiratorias y alteraciones gastrointestinales, incluyéndose en el rubro de otras enfermedades (4%) y un paciente (2%) con VIH.

Tabla 7. Enfermedades asociadas

Descripción	Casos	%
Sin antecedentes	44	88%
Hipertensión arterial	2	4%
Otras	2	4%
Cardiopatías	1	2%
VIH	1	2%
Total	50	

Determinación de especies de *Malassezia*:

Examen directo:

En todos los casos se procedió a tomar un examen directo de la región centrofacial; En los pacientes sanos (grupo control), no se identificaron estructuras fúngicas en el microscopio de luz y no hubo desarrollo de colonias en los medios de cultivo.

En los todos los pacientes con dermatitis seborreica, el examen directo fue positivo y se demostró la presencia de levaduras compatibles con *Malassezia*, así como desarrollo de colonias en 19 cultivos con Dixon modificado, que representa el 36%.



Crecimiento de colonias de *Malassezia spp* en medio de Dixon modificado

Morfología de las levaduras del examen directo

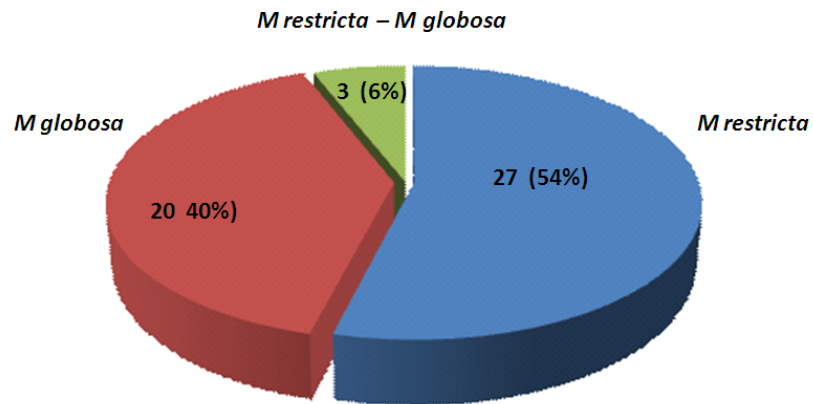
De las 50 muestras obtenidas en el examen directo con microscopia de luz, por morfología se identificaron, en 28(58%) a *Malassezia restricta*, en 19 (36%) a *M. globosa* y en 3(6%) se observó la mezcla de estructuras fúngicas compatibles con *M. restricta* y *M. globosa*.

Tabla 8.- Morfología de las levaduras

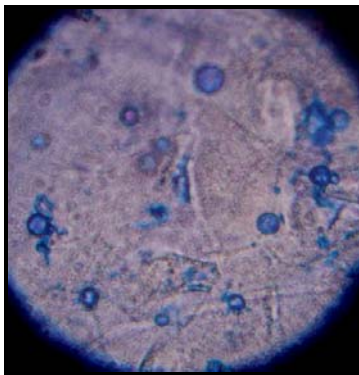
Morfología de las levaduras	Casos	%
<i>M. restricta</i>	28	58%
<i>M. globosa</i>	19	36%
<i>M. restricta</i> - <i>M. globosa</i>	3	6%
Total	50	100%

Morfología de las levaduras

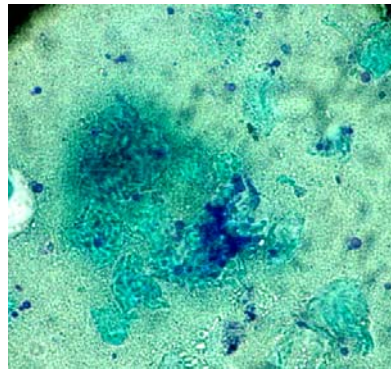
n=50



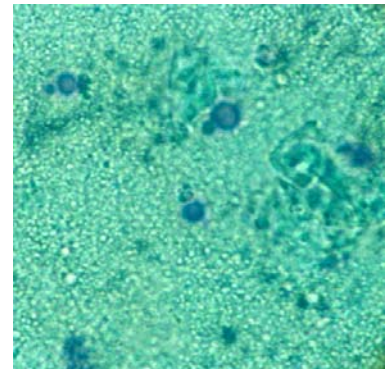
Gráfica 6



Levaduras grandes y redondas compatibles con *M. globosa*



Levaduras pequeñas, numerosas algunas con gemación, compatibles con *M. restricta*



Levaduras grandes y redondas otras pequeñas compatibles con *M. globosa* y *M. restricta*

Densidad de levaduras-Cuadro clínico

En 23(46%) pacientes, se observó por microscopia de luz, una densidad de levaduras mayor de 11 por campo, que correspondio a un cuadro clínico severo en 14, moderado en 4 y leve en 5; En 9 pacientes (18%) se identificaron 5 a 10 levaduras por campo y de estos seis con cuadro clínico leve y tres moderado; En 18 pacientes (36%) se observó una densidad de levaduras de 1 a 4 por campo.

Tabla 9.-

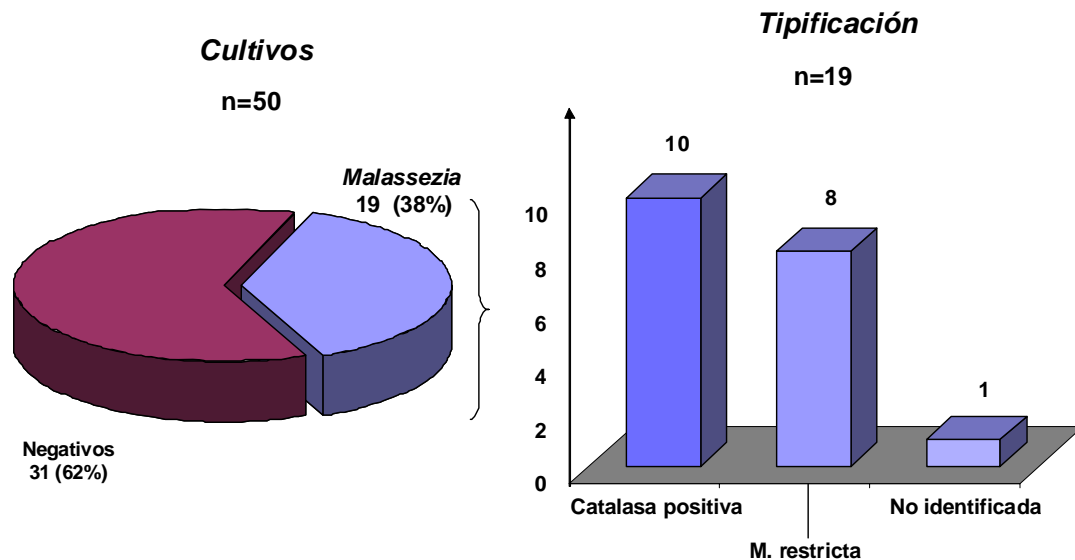
Densidad de <i>Malassezia</i> por campo	Cuadro clínico				
	Leve	Moderado	Severo	Total	%
1 a 4 levaduras	3	9	6	18	36%
5 a 10 levaduras por campo	6	3	0	9	18%
> 11 levaduras por campo	5	4	14	23	46%
Total	14	16	20	50	

$\chi^2 = 15.6$, $P = 0.01$ (estadísticamente significativo)

Tipificación de las especies por pruebas fisiológicas

De los 50 cultivos que fueron enviados al laboratorio de micología de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) en 19(38%) se logró el crecimiento de colonias de *Malassezia*.

De estos 19 subcultivos se realizó la tipificación de las especies, en 8(42.1%) correspondió a *M.restricta*, en 10(52.6%) fueron *Malassezia spp.* catalasa positiva y en uno no se identificó



Gráfica 7

Correlación de la morfología de las especies por examen directo – Tipificación por pruebas fisiológicas

En cuanto a la tipificación se identificó en 8 casos a *M. restricta* por pruebas fisiológicas, y se estableció la correlación morfológica por examen directo en 5 casos.

Conclusiones

- 1) Se observó un discreto predominio en mujeres.
- 2) Los grupos estudiados en relación a la edad fueron equivalentes.
- 3) La topografía mas frecuente fue la centrofacial.
- 4) Predominó el eritema con escama abundante.
- 5) El tiempo de evolución en la mayoría de los casos osciló de menos de un año a dos años.
- 6) Dentro de los factores predisponentes más importantes encontramos la alimentación deficiente sola o acompañada de depresión y ansiedad.
- 7) En la mayoría de los casos, no se encontró ninguna enfermedad asociada.
- 8) El estudio micológico (examen directo) fue positivo para *Malassezia* en todos los pacientes con Dermatitis seborreica y negativos en el grupo control.
- 9) El examen directo es el estándar de oro en la asociación de DS y *Malassezia spp.*
- 10) El agar Dixon modificado demostró ser el medio idóneo para el desarrollo de *Malassezia* en primocultivos
- 11) Mediante observación por microscopia de luz, se identificó a *Malassezia restricta* en la mayoría de los casos, seguida por *M. globosa* y la asociación de ambas en mínima proporción.
- 12) En relación a la correlación clínico-micológica, se demostró que la mayor densidad de levaduras correspondía a los cuadros clínicos más severos.

- 13)** En la tipificación por pruebas fisiológicas, la especie más frecuente identificada fue *Malassezia restricta*.
- 14)** En 10 subcultivos de *Malassezia* no se pudieron identificar las especies y únicamente obtuvimos la reacción de la catalasa positiva

Comentarios:

Consideramos, que una aportación de nuestro trabajo, es haber demostrado en el examen directo la presencia de *Malassezia* en todos los casos con dermatitis seborreica, a diferencia del grupo testigo en donde el examen directo y cultivo fueron negativos, lo que establece un vínculo entre la levadura y el cuadro clínico. El porcentaje de cultivos positivos recuperados en este estudio corresponde a lo comunicado en la literatura. En nuestro trabajo en los pacientes con dermatitis seborreica, determinamos por pruebas fisiológicas que la única especie aislada fue *Malassezia restricta*, y en el 52.6% *Malassezia spp.* catalasa positiva, en donde no pudimos identificarlas por deficiencia en los recursos de biología molecular. En los trabajos publicados a nivel mundial las especies catalasa positiva que se aíslan con mayor frecuencia, solas o combinadas en pacientes con DS son: *M. sympodialis*, *M. globosa*, *M. furfur*, *M. obtusa*, *M. slooffiae*.

Ashbee *et al.* , demostraron que *M.restricta* es diez veces mas mayor en las lesiones de dermatitis seborreica que en la piel sana. Sin embargo, Rendic *et al*, comunican en su trabajo que la presencia de distintas especies del género *Malassezia*, no tiene relación con lesiones en la piel.

En los resultados comunicados por Guélo *et al.* describen que *M. globosa* se ha encontrado frecuentemente, tanto en lesiones de pitiriasis versicolor, como en la dermatitis seborreica, mientras que *M. restricta* se ha aislado frecuentemente asociada a otras especies, en la piel de la cara y piel cabelluda de sujetos sanos.

Berbrant y Faegermann, no hallaron diferencias cuantitativas, entre la población de *Malassezia* en las lesiones de dermatitis seborreica y en la piel sana, sin embargo Heng *et al.* comunicaron que la densidad de *Malassezia* no solo es

significativamente mayor en la lesiones de dermatitis seborreica que en la piel sana, sino que el numero de levaduras esta relacionado con la severidad del cuadro clínico, este dato coincide con nuestros resultados, donde se demostró que la densidad de las levaduras esta en relación con la severidad del cuadro clínico .

El estudio de levaduras del género *Malassezia* ha sido, de gran confusión y controversia. Algunas comunicaciones, han avanzado en esclarecer esto para confirmar la redefinición del género y sus 13 especies. Sin embargo, la ecología y patogenicidad de cada especie, es aún tema que requiere de más estudios.

A pesar de los adelantos en este terreno, el examen directo, es el recurso más sencillo, barato, eficaz y seguro para la identificación morfológica de *Malassezia spp.*

Carta de consentimiento informado

México D. F. a _____ de _____ 2006

A QUIEN CORRESPONDA:

Yo _____, me declaro libre y voluntariamente que acepto participar en el estudio "Aislamiento e identificación de Malassezia en pacientes adultos con dermatitis seborreica facial". Estoy conciente de que los procedimientos y pruebas para lograr el objetivo consistirá en interrogatorio, registro iconográfico (fotográfico) de las lesiones, así como examen micológico directo de la piel de las lesiones y obtención de muestras para el cultivo. Me comprometo a presentarme puntualmente a la cita asignada. Entiendo que del presente estudio derivarán los siguientes beneficios: ampliar los conocimientos institucionales sobre el evento en estudio.

Es de mi conocimiento seré libre de retirarme de la presente investigación en el momento que yo así lo desee. También puedo solicitar información adicional acerca de los riesgos y beneficios de la participación en el estudio. En caso de que decida retirarme, la atención que como paciente recibo en esta institución no se verá afectada.

Nombre y firma del paciente

Testigo

Testigo

Enfermedades asociadas

- 1.- Parkinson 2.- Hipertensión arterial 3.- Cardiopatías 4.- Diabetes mellitus
5.- Neoplasias 6.- SIDA

Sitio de toma de la muestra

Fecha: _____

Resultado del examen directo: _____

Resultado de cultivo: _____

Resultado de la tipificación de la especie: _____

Bibliografía

- 1.- Álvarez LO. Dermatitis seborreica. Tesis de postgrado, CDP. México, D.F. 1982
- 2.- Arenas, R. Dermatitis Seborreica, Comunicación personal, México, 1986.
- 3.- Naldi L, Rebora A. Seborrheic Dermatitis. N Engl J Med 2009;360:388-396
- 4.- Moehrle M, Dennenmoser B, Schlagenhauff B, Thomma S, Garbe C. High prevalence of seborrhoeic dermatitis on the face and scalp in mountain guides. *Dermatology* 2000;201:146-7.
- 5.- DeAngelis Y, Gemmer C, Three Etiologic facets of Dandruff and Seborrheic Dermatitis: Malassezia Fungi, Sebaceous Lipids, and Individual Sensitivity. *J Investig Dermatol Symp* 2005;10:295-297
- 6.- Perrot J, Misery L, Dermatoses relacionadas con Malassezia furfur. *Enciclopedia medica quirúrgica*. ELSEVIER, 2005.
- 7.- Ackerman, A.B, *Histologic Diagnosis of Inflammatory Skin Diseases*, Lea y ebiger, Philadelphia, 2000, pps 77-87
- 8.- Agache, P, Blanc D. Current Status in sebum Knowledge. *Int J Derm* 6(1):304-311, 1985.
- 9.- Sajad Hussain M, Aviv ur R, Mumtaz Ahmad K. Role of Malassezia yeast (pityrosporum) in seborrheic dermatitis (SD), *JCPSP* 2005; 15:771-773.
- 10.- Crespo V, Ojedo A, Vera A. Aislamiento e identificación de Malassezia ssp en pitiriasis versicolor, dermatitis seborreica y piel sana. *Rev Iberoam Micol* 1999;16:16-21
- 11.- Sosa M, Mangiaterra M, Giusiano G. Especies de Malassezia productoras de infecciones sistémicas y superficiales. *UNN* 2004

- 12.- Hernández F, Méndez L, Bazán E. Especies de *Malassezia* asociadas a diversas dermatosis y a piel sana en población mexicana. *Rev Ibero Am Micol* 2003; 20:141-144
- 13.- Rendic E, Díaz c, Fich F. Caracterización de especies del género *Malassezia* en pacientes dermatitis seborreica y en controles. *Rev Med Chile* 2003;131:1295-1300
- 14.- Chanussot C, Arenas R. Folliculitis por *Malassezia* sp. *Dermatología Rev Mex* 2006;50:23-25
- 15.- Arenas R. Atlas Dermatología. Diagnóstico y tratamiento. Tercera edición, México, 2005.
- 16.- Gupa AK, Blhm R, Summerbell R. Pityriasis versicolor. *Eur Acad Dermatol and Vendreol* 2002;16:19-33
- 17.- Padilla MC. Pitiriasis versicolor. *Dermatología Rev Mex* 2005;49:157-67
- 18.- Klindo AJ, Kalyani J, Anandan S. Identification of *Malassezia* species. *Indisn Journal of Medical Microbiology* 2004;179-180
- 19.- Goodheart H. Common Skin Disorders, Diagnosis and Magement, Second eition. Philadelphia. 2003
- 20.- Zargari A, Midgley G, Bäck S. IgE-reactivity to seven *Malassezia* species. *Allergy* 2003;58:306-311
- 21.- Torres E. Arenas R. Infecciones causadas por el género *Malassezia*. *Med Cutan Iber Lat Am* 2008;36(6):265-284
22. Tajima M, Sugita T, Nishikawa A, Tsuboi R. Molecular analysis of *Malassezia* microflora in seborrheic dermatitis patients: comparison with other diseases and healthy subjects. *J Invest Dermatol* 2008;128:345-51.

- 23.- Watanabe S, Kano R, Sato H .The effects of Malassezia yeast on cytokine production by human keratinocytes. *J Invest Dermatol* 2001;116:769-773
- 24.- Chmidt A. Malassezia furfur: A fungus belonging to the physiological skin flora and its relevance in skin disorders. *Cutis* 1997;50:21-24
- 25.- Diaz M, Boekhout T, Theelen B. Microcording and flow cytometry as a high-throughput fungal identification system for Malassezia species. *Journal of Medical Microbiology*. 2006;55:1197-1209
- 26.- Hernández J. Tesis de Postgrado. Universidad Autónoma de Barcelona. Caracterización molecular de especies del género Malassezia. 2005.
- 27.- Zaits C, Rangel BRL. Dermatoses asociadas as levaduras do genero Malassezia. *An Bras Dermatol* 2000;75:129-142
- 28.- Guillot J, Bond R. Malassezia paquydermatis: a review. *Medical Mycology* 1999;37:295-306
- 29.- Guillot J, Deville M, Berthelemy M, Provost F, Guého E. A single PCR - restriction endonuclease analysis for rapid identification of Malassezia species. *Lett appl Microbiol* 2000; 31(5): 400-403.
- 30.- Gupta AK, Kohli Y, Summerbell C. Quantitative culture of Malassezia species from different body sites of individuals with or dermatoses. *Medical Mycology* 2001;39:243-251
- 31.- Ramos L, Mellado S, Ramádan S. Empleo de blanco de calcoflúor para el estudio de las especies de Malassezia por microscopía directa. *Revista Argentina de Microbiología* 2006;38:4-8
- 32.- Padilla DMC. Laboratorio de Micología. *Rev Cent Dermatol Pascua* 1997;6(3):182-185.

- 33.- Crespo M, Abarca M, Cabañes F. Atypical lipid-dependent *Malassezia* species isolated from dogs with otitis externa. *J Clin Microbiol* 2000;2383-2385.
- 34.- Guého E, Midgley G, Guillot J. The genus *Malassezia* with description of four new species. *Antonie van Leeuwenhoek* 1996; 69: 337-355.
35. Simmons RB, Guého E. A new species of *Malassezia*. *Mycol Res* 1990; 94: 1146-1149.
- 36.- Sugita T, Takashima M, Shinoda T, et al. New yeast species, *Malassezia dermatis* isolated from patients with atopic dermatitis. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 1363-1367.
- 37.- Guého E, Boekhout T, Ashbee HR, Guillot J. The role of *Malassezia* species in the ecology of human skin and as pathogens. *Medical Mycology* 1998;36:220-229.
- 38.- Guillot J, Guého E, Lesourd M, Midgley G, Chévrier G, et al. Identification of *Malassezia* species. A practical approach. *J Mycol Med* 1996;6:103-110.
- 39.- Boekhout T, Kamp M, Guého E. Molecular Typing of *Malassezia* species with PFGE and RAPD. *Medical Mycology* 1998;36:365-372.
- 40.- Gupta AK, Kaohli Y, Summerbell RC, Faergemann J. Quantitative culture of *Malassezia* species from different body sites of individuals with or without dermatosis. *Med Mycol* 2001; 39: 243-251.
- 41.- Aspiroz C, Moreno L, Rezusta A, Rubio C. Differentiation of three biotypes of *Malassezia* species on human normal skin correspondence with *M. globosa*, *M. sympodialis* and *M. restricta*. *Mycopathologia* 1999; 145: 69-74.
- 42.- Porro MN, Passi S, Caprilli F, Nazarro P, Growth requirements and lipid metabolism of *Pityrosporum orbivulare*. *J Inv Dermatol* 1976;66:178-182.

- 43.- Faergemen J, Fredrikson T. Age incidence of *Pityrosporum orbiculare* on human skin. *Acta Derm Venerol* 1980;60:531-533
- 44.- Sugita T, Takashima M, Shinoda T, Suto H, Unno T, Tsuboi R, Ogawa H, Tsuboi R, New yeast species, *Malassezia dermatis* Isolated from patients with atopic dermatitis. *J. Clin Microbiol* 2002; 40:1363-1367.
- 45.- Gemmer C, Deangelis Y, Theelen B, Boekhout T, Dawson T. Fast, Noninvasive method for molecular detection and differentiation of *Malassezia* yeast species on human skin and application of the method to dandruff. *Microbiology. J Clin Microbiol* 2002; 40: 3350-3357.