

2006 A – 2011 A

302165589

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS
DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AMBIENTALES



TIPIFICACIÓN DE ESPECIES DE *Malassezia spp.* EN PACIENTES CON PITIRIASIS VERSICOLOR, DEL INSTITUTO DERMATOLÓGICO DE JALISCO "DR. JOSÉ BARBA RUBIO"

TESIS PROFESIONAL
PARA OBTENER EL TÍTULO DE LICENCIADO EN BIOLOGÍA

P R E S E N T A

RUTH MARCELA DE LEÓN RAMÍREZ

Director: Biól. Jorge Arturo Mayorga Rodríguez

Zapopan, Jalisco, Marzo del 2013



UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS

COORDINACIÓN DE CARRERA DE LA LICENCIATURA EN BIOLOGÍA
COMITÉ DE TITULACIÓN



COORO BIOL. 243.2011

C. RUTH MARCELA DE LEÓN RAMÍREZ
PRESENTE

Manifiestamos a usted que con esta fecha ha sido aprobado su tema de titulación en la modalidad de TESIS E INFORMES opción Tesis, con el título "TIPIFICACIÓN DE ESPECIES DE *Malassezia spp.* EN PACIENTES CON PITIRIASIS VERSICOLOR, DEL INSTITUTO DERMATOLÓGICO DE JALISCO "DR. JOSÉ BARBA RUBIO", para obtener la Licenciatura en Biología.

A mismo tiempo le informamos que ha sido aceptado como director de dicho trabajo al Biol. Jorge Arturo Mayorga Rodríguez y como asesora a M. C. Rosa María Domínguez Arias.

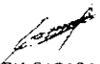
Si mas por el momento, aprovechamos para enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
PIENSA Y TRABAJA

Las Vigas, Nayarit, Zapopan, Jalisco, 13 de diciembre de 2011



DRA. TLRESA DE JESÚS ACEVES ESQUIVIAS
PRESIDENTE DEL COMITÉ DE TITULACIÓN



M. C. GLORIA PARADA BARRERA
SECRETARÍA DEL COMITÉ DE TITULACIÓN

Impreso en el Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias
de la Universidad de Guadalajara, Jalisco, México, el 13 de diciembre de 2011

Dra. Teresa de Jesús Aceves Esquivas
Presidente del Comité de Titulación
Licenciatura en Biología
CUCEA
Presenta:

Nos permitimos informar a usted que habiendo revisado el trabajo de titulación modalidad tesis o informes titulación Tesis con el título **TIPIFICACION DE ESPECIES DE *Malassezia* spp. EN PACIENTES CON PITIRIASIS VERSICOLOR, DEL INSTITUTO DERMATOLÓGICO DE JALISCO "DR. JOSE BARBA RUBIO"** que realizó e la pasante Ruth Marcela De León Ramírez con número de código 302135589 consideramos que ha quedado decididamente concluido por lo que ponemos a su consideración el escrito final para autorizar su impresión.

Si no hay particular quedamos de usted con un cordial saludo.

Atentamente,

Las Aguas, Zapopan, Jalisco 01 de noviembre de 2017.

Firma

Nombre Prol. Jorge André Mayorga Rodríguez

Directora del trabajo

Firma

Nombre Prol. Rosa María Domínguez Aras

Asesores

Nombre Prol. Laura Guzmán Dávalos

Dra. Laura Guzmán Dávalos

Dra. Gaina Petrovna Zaitseva

Dra. María Del Rosario Huzar López

M. en C. Rosa María Domínguez Aras

Este trabajo se realizó en: El Instituto Dermatológico de Jalisco "Dr. José Barba Rubio," bajo la dirección del Biól. Jorge Arturo Mayorga Rodríguez y la asesoría de la M. en C. Rosa María Domínguez Arias.

RESUMEN

La pitiriasis versicolor es una micosis superficial crónica, caracterizada por la presencia de máculas hipopigmentadas o hiperpigmentadas, levemente descamativas. Es causada por un grupo de levaduras lipofílicas pertenecientes al género *Malassezia*, que constituyen una parte importante de la microbiota saprobia fúngica de la piel del hombre y de otros animales de sangre caliente. Su distribución geográfica es cosmopolita y en México es más frecuente en zonas tropicales y subtropicales. Estas levaduras pueden actuar como patógenos cuando se exponen a diferentes factores endógenos y exógenos. Recientemente el género se revisó y amplió a 14 especies.

La tipificación de *Malassezia* permite dar a conocer cuáles son las especies prevalentes en nuestro medio, ya que en Jalisco no hay estudios previos al respecto, así como también correlacionar las características clínicas y micológicas de los pacientes con la pitiriasis versicolor. Se realizó un estudio transversal, observacional y descriptivo en 50 pacientes que acudieron a consulta externa del Instituto Dermatológico de Jalisco "Dr. José Barba Rubio".

Se aisló *Malassezia* a través de un estudio micológico y se tipificaron seis especies: *Malassezia restricta*, la más prevalente con 28.9%, seguida de *M. furfur* con 23%, *M. sympodialis* con 17.3%, *M. slooffiae* con 15.3%, *M. pachydermatis* con 11.6% y *M. globosa* con 3.9%. Las especies se tipificaron por medio de pruebas bioquímicas, que consistieron en la asimilación de diversos Tween, de aceite de ricino, y pruebas de la catalasa y de la esculina. Además se aplicó un cuestionario a los pacientes para obtener datos de importancia epidemiológica, como: sexo, edad, ocupación, lugar de residencia, topografía y agente etiológico, entre otros.

DEDICATORIA

Son muchas las personas especiales a las que me gustaría agradecer su amistad, apoyo, ánimo y compañía en las diferentes etapas de mi vida. Algunas están aquí conmigo y otras en mis recuerdos y en el corazón. Sin importar en donde estén quiero darles las gracias por formar parte de mi vida.

Ruth!!!

ÍNDICE

	Página
RESUMEN	v
DEDICATORIA.....	vi
ÍNDICE.....	vii
LISTA DE FIGURAS	x
LISTA DE TABLAS.....	xii
LISTA DE GRÁFICOS.....	xiii
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. ANTECEDENTES	3
3. MARCO TEÓRICO.....	7
3.1 Epidemiología	7
3.2 Etiología	7
3.3 Patogenia	9
3.4 Clasificación clínica	9
3.5 Diagnóstico de laboratorio.....	10
3.5.1 Examen directo	10
3.5.2 Luz de Wood	10
3.5.3 Histopatología	11
3.5.4 Cultivo	11
3.5.5 Diagnóstico diferencial	11

4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	12
5. JUSTIFICACIÓN	13
6. HIPÓTESIS	14
7. OBJETIVOS	15
8. MATERIAL Y MÉTODOS	16
8.1 Tipo de estudio.....	16
8.2 Consideraciones éticas	16
8.3 Sede de estudio	16
8.4 Universo	16
8.5 Tamaño de la muestra	16
8.6 Criterios de inclusión	16
8.7 Criterios de exclusión	16
8.8 Equipos	16
8.9 Medios de cultivo.....	16
8.10 Colección de las muestra	17
8.10.1 Examen directo con cinta adhesiva y azul de metileno	17
8.10.2 Cultivo	17
8.10.3 Tipificación	17
8.10. 4 Reacción de la catalasa	18
8.10.5 Desdoblamiento de la esculina.....	18
9. RESULTADOS	19
10. DISCUSIÓN	31

11. CONCLUSIONES.....	33
12. BIBLIOGRAFÍA	34
ANEXO 1. Estudio micológico	37
ANEXO 2. Cuestionario epidemiológico	38
ANEXO 3. Características fisiológicas y bioquímicas de <i>Malassezia</i> spp.....	39
ANEXO 4. Esquema de identificación para levaduras del género <i>Malassezia</i>	40

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Formas parasitarias de <i>Malassezia</i>	20
Figura 2. Cultivo de <i>Malassezia</i> en ADS con aceite de oliva.....	21
Figura 3. Cultivo de <i>Malassezia</i> en ADS sin aceite de oliva.....	21
Figura 4. Asimilación de Tween en <i>Malassezia</i>	23
Figura 5. Reacción de la catalasa en <i>Malassezia</i>	25
Figura 6. Prueba de la esculina en <i>Malassezia</i>	25
Figura 7. Morfología de las levaduras de <i>Malassezia</i> en la tinción de Gram.....	24
Figura 8. Pitiriasis versicolor en tórax posterior.....	26
Figura 9. Pitiriasis versicolor en tórax anterior.....	26
Figura 10. Pitiriasis versicolor en cara.....	28

Figura 11. Pitiriasis versicolor en región centrofacial.....	29
Figura 12. Pitiriasis versicolor en región axilar.....	29
Figura 13. Aplicación de la luz de Wood para detectar la Pitiriasis versicolor.....	30

LISTA DE TABLAS

	Página
Tabla 1. Características de las especies de <i>Malassezia</i>	8
Tabla 2. Especies de <i>Malassezia</i> tipificadas en los pacientes estudiados	23
Tabla 3. Relación de topografía anatómica y especies tipificadas de <i>Malassezia</i> ...	26
Tabla 4. Localización de las lesiones de Pitiriasis versicolor.....	27
Tabla 5. Disposición de las lesiones de Pitiriasis versicolor.....	27
Tabla 6. Relación entre el cromatismo y especies tipificadas de <i>Malassezia</i>	28

LISTA DE GRÁFICOS

	Página
Gráfico 1. Distribución de los pacientes con Pitiriasis versicolor por sexo.....	19
Gráfico 2 . Distribución de los pacientes con Pitiriasis versicolor por grupos de edad.....	19
Gráfico 3. Lugar de procedencia de los pacientes con Pitiriasis versicolor.....	20
Gráfico 4. Especies tipificadas de <i>Malassezia</i>	22
Gráfico 5. Aplicación de luz de Wood en pacientes con Pitiriasis versicolor.....	29

1. INTRODUCCIÓN

La pitiriasis versicolor (PV) es una micosis superficial recurrente de la capa córnea de la piel, causada por levaduras lipofílicas del género *Malassezia*. Está ligada estrechamente a las condiciones ambientales y es común en regiones tropicales y subtropicales, como en América Central y del Sur, África, la región del Mediterráneo, India y la Polinesia^{1,2}. Su frecuencia varía del 10 al 50% en lugares cálidos y húmedos como la costa y se puede observar desde lactantes hasta ancianos³. La colonización de la piel sana por especies de *Malassezia* comienza durante las primeras semanas de vida, con niveles del 30% de colonización al mes de vida y hasta 90% en adultos⁴.

Las especies del género *Malassezia* son organismos levaduriformes que han adquirido una importancia considerable por ser agentes causales de diversas patologías a nivel cutáneo y sistémico, como por ejemplo: pitiriasis versicolor, foliculitis y fungemia y como factor asociado a dermatitis seborreica, psoriasis, dermatitis atópica, papilomatosis reticulada y confluyente, onicomycosis, pustulosis neonatal y otitis externa maligna. También constituyen una parte importante de la biota normal de la piel tanto de humanos como de animales, aunque pueden comportarse como patógenos si existe alguna alteración de la piel y si ésta es expuesta a diversos factores endógenos y exógenos que influyen en su desarrollo. Algunos factores que promueven su desarrollo como patógenos son temperatura elevada, humedad alta, piel grasa, tratamientos con corticoides e inmunosupresión⁵.

Una de las características fisiológicas más importantes de este género es que utilizan los lípidos como única fuente de carbono. Esta afinidad varía entre las especies, por lo que se pueden encontrar levaduras lipodependientes, que son aquellas que necesitan ácidos grasos de cadena larga para su desarrollo, y levaduras no lipodependientes, que tienen la capacidad de desarrollarse en presencia de ácidos grasos de cadena corta y que se encuentran normalmente en medios convencionales utilizados en el laboratorio⁵.

La PV se caracteriza por presentar máculas o placas descamativas de tamaño y pigmentación variable, principalmente hipopigmentadas, con una frecuencia de 85%, e hiperpigmentadas, con un 15%. Las lesiones se localizan en las partes más seborreicas del cuerpo como el pecho, espalda, cuello y cara, esta última frecuentemente en niños en la región centrofacial².

Desde el punto de vista fisiológico la principal característica de las levaduras productoras de la PV es su lipofilicidad, debido a que tienen un defecto en la síntesis de ácidos grasos y requieren de ácidos grasos exógenos para subsistir. Es por ello que la mayoría de las especies de *Malassezia* pueden ser aisladas de aquellas áreas del cuerpo con abundantes glándulas sebáceas⁶. *Malassezia pachydermatis* es la única especie no lipodependiente y primariamente zoofílica. Se ha aislado de la piel humana ocasionalmente y está implicada en infecciones nosocomiales sistémicas. En animales forma parte de la microbiota cutánea normal de perros y gatos, por lo que puede aislarse de la piel y mucosas de estos animales⁶.

La revisión y clasificación taxonómica de *Malassezia* ha sido de suma importancia, ya que permitió enfocar el interés científico en el comportamiento clínico de las especies⁶. El desarrollo de técnicas moleculares y fisiológicas para distinguir las especies condujo a investigaciones novedosas para conocer cuál es la relación de estas levaduras con determinadas enfermedades de piel, en especial con la PV⁶.

La identificación de las especies se basa en su morfología celular y aspectos fisiológicos, como la asimilación de detergentes no iónicos como única fuente lipídica (Tween 20, 60, 80), la presencia de catalasa, el crecimiento en aceite de ricino, de oliva y el desdoblamiento de la esculina por la actividad de la β glucosidasa en el medio bilis esculina. Además varios métodos de tipificación molecular se utilizan como herramientas epidemiológicas, confirmando la determinación de las especies⁷.

2. ANTECEDENTES

Eichstedt en 1846 fue el primero en reconocer la naturaleza fúngica de la PV y describió la presencia de levaduras y micelios en materiales obtenidos de pacientes con esta afección. Robin en 1853 nombró a *Microsporum furfur*, al observar células redondeadas en la piel de pacientes con caspa. En 1874, Malassez informó sobre células brotantes de varias formas en el estrato córneo de pacientes con diversas enfermedades de la piel. Casi medio siglo después de conocida la etiología de la PV, en 1889 Baillon describió el género *Malassezia* en honor a Malassez, con *M. furfur*, como especie responsable de la PV. La denominación de la especie hace alusión a las finas escamas, de consistencia furfurácea o parecida al salvado que se desprenden de las lesiones en esta afección⁸.

Sabouraud en 1904 enfatizó sobre la presencia de dos morfologías en las preparaciones de materiales de lesiones de piel. Creó el género *Pityrosporum* para la fase levaduriforme y mantuvo el nombre de *M. furfur* para la micelial. La morfología variable de las levaduras llevó a algunos taxónomos a separarlas en dos especies. Castellani y Chalmers en 1913 llamaron *P. ovale* a la forma oval y en 1951 Gordon denominó *P. orbiculare* a las levaduras esféricas presentes en la piel con y sin lesiones. Este fue el primer indicio de que el agente de la PV formaba parte de la biota normal de piel¹.

Pityrosporum orbiculare fue asociada a la PV y *P. ovale* a la pitiriasis capitis (caspa) y dermatitis seborreica (DS). Por largo tiempo, muchos autores creyeron que las levaduras y el micelio que observaban en las preparaciones microscópicas de materiales clínicos eran distintos organismos¹. En 1925 Weidman describió *P. pachydermatis*, especie no lipofílica aislada de animales, a la cual Dodge en 1935 propuso incluirla dentro del género *Malassezia*⁹.

Castellani y Chalmers fueron los primeros que lograron cultivar el agente causal de la PV. Benham en 1939 fue quién por primera vez notó la necesidad de sustancias grasas exógenas en el medio de cultivo. Shifrine y Marr en 1963 demostraron la incapacidad de este organismo para producir ácidos grasos de cadena corta¹⁰.

En estudios posteriores se observó la inestabilidad de las formas oval y redondeada de las levaduras y que éstas podían cambiar de una a otra, según el medio o las condiciones de cultivo. También se aceptó la relación entre la fase levaduriforme y micelial y la posibilidad de conversiones entre ellas. Esta situación se resaltó a fines de

la década de los 1970's cuando diferentes grupos independientes indujeron la producción de micelio *in vitro* a partir de la levadura. Posteriormente en 1986 estudios micológicos, inmunológicos y análisis genéticos confirmaron la inestabilidad morfológica de este hongo y que la levadura (oval o redondeada) y el micelio eran sólo estados simples del complejo ciclo de vida de un mismo hongo. El nombre *M. furfur* se aplicaba entonces sólo la fase micelial de un hongo cuyas fases levaduriformes, recibían los nombres de *P. ovale* y *P. orbiculare*, según su morfología. A partir de ese momento y de acuerdo a las reglas de nomenclatura se deja sin efecto el uso del término *Pityrosporum*, adaptándose la denominación de *Malassezia* para cualquiera de las formas que se observen de este hongo¹¹.

En 1989 Gueho y Meyer confirmaron la sinonimia de *P. ovale* y *P. orbiculare*, al demostrar una complementariedad ADN/ADN superior a 85%. En 1990 Simmons y Gueho presentaron una especie lipofílica nueva, *M. sympodialis* con base en el bajo contenido de G+C en su ADN (54%, comparado con 66% de *M. furfur*) y en la gemación simpodial¹². Guillot y Gueho en 1996, a través de técnicas de biología molecular, como secuencias de rARN y por comparación del ADN nuclear, introdujeron cuatro especies más. A partir de ese momento estudios genómicos y ribosomales permitieron reconocer, caracterizar y clasificar las especies que hasta hoy componen este género¹².

Las técnicas de laboratorio para la tipificación de las especies de *Malassezia* presentan complicaciones para su aislamiento, mantenimiento e identificación, ya que su morfología y sus requerimientos han cambiado en décadas, sobre todo en los estudios *in vitro*¹³. El desarrollo de diversas técnicas moleculares ayudó a resolver las desventajas de los métodos convencionales, tanto es así que en los últimos años se han propuesto varias técnicas basadas en la reacción en cadena de la polimerasa con restricción enzimática (PCR-REA), en la amplificación al azar del ADN (RAPD), en la electroforesis de campo pulsante (PFGE) y en la digestión por enzimas de restricción de productos de PCR (PCR-RFLP). Sin embargo, estas técnicas sólo permiten la identificación de algunas especies, por lo que aun se busca un método certero, reproducible, simple y de bajo costo que permita la diferenciación genotípica de todas las especies hoy conocidas¹³.

En un estudio realizado por Hernández y colaboradores, en el 2003, determinaron la frecuencia y distribución de especies de *Malassezia* en pacientes con psoriasis, DS y PV, en individuos con piel sana, atendidos en el servicio de Dermatología del Instituto

Mexicano del Seguro Social de la ciudad de México. Sembraron las escamas de la piel enferma y sana en agar Dixon modificado (ADm). Las especies se identificaron por morfología macroscópica y microscópica, pruebas de catalasa, ureasa, crecimiento a 32, 37 y 40 °C, así como la asimilación de Tween 20, 40, 60 y 80. Las especies que aislaron con mayor frecuencia fueron *M. sympodialis* y *M. furfur* de pacientes con psoriasis, *M. sympodialis* y *M. slooffiae* en pacientes con DS, *M. globosa* y *M. sympodialis* en personas con PV, y *M. restricta* y *M. globosa* en individuos sanos. El número de aislamientos de *Malassezia* spp. Fue mayor en el grupo de pacientes que en el grupo de individuos sanos¹⁴. Posteriormente en el 2005 Mirhendi y colaboradores propusieron la técnica de PCR-RFLP para identificar 11 especies de *Malassezia*^{15, 16}.

Giusiano y colaboradores en el 2010 estudiaron la prevalencia de especies de *Malassezia*, en individuos del noreste Argentino, que identificaron por PCR-RFLP, en lesiones de PV y su distribución de acuerdo al sitio anatómico de las lesiones. Incluyeron pacientes con cultivo positivo para *Malassezia*, de los cuales registraron su edad, género y sitios anatómicos de las lesiones. Como resultados *M. sympodialis* y *M. globosa* fueron las especies con mayor prevalencia, aisladas en el 82% de los pacientes, bien como agente único o en asociación con otras especies. *Malassezia furfur* se encontró en tercer lugar, seguida por *M. slooffiae*, además *M. restricta* se aisló en asociación con *M. globosa* y *M. sympodialis*. *Malassezia dermatis* y *M. pachydermatis* se aislaron una sola vez. No se encontró una relación significativa entre las especies aisladas y los lugares anatómicos. Únicamente se encontraron diferencias significativas entre sexos. Estos resultados sugieren que *M. sympodialis* y *M. globosa* son las principales especies implicadas en la patogenia de la PV sin predominio de ninguna de ellas¹⁶.

Martín y colaboradores en el 2010 analizaron la prevalencia de las especies de *Malassezia* en las lesiones de pacientes con PV y en individuos sanos del servicio de Dermatología en el Hospital Carlos Haya en Málaga, España. Obtuvieron muestras de las lesiones con papel adhesivo transparente para el examen directo al microscopio utilizando KOH al 20% mezclado con tinta Parker azul negra, además se sembraron en medio ADm para su cultivo. Las distintas especies de *Malassezia* se identificaron según sus características macro y microscópicas y pruebas fisiológicas, que demostraron que *M. globosa* fue la especie predominante seguida por *M. sympodialis*. Concluyeron que la fase micelial de *M. globosa* es el principal agente etiológico de la PV¹⁷.

Trabelsi y colaboradores en el 2010 identificaron especies de *Malassezia* en pacientes con PV en la población de Túnez. Las muestras obtenidas mediante el raspado de las lesiones se sembraron en ADS con y sin aceite de oliva. La identificación se basó en la morfología de las levaduras y su fisiología, como las pruebas de reacción a la catalasa, ureasa y asimilación de Tween 20, 40 y 80. Aislaron cinco especies: *M. globosa*, *M. furfur*, *M. sympodialis*, *M. slooffiae* y *M. pachydermatis*, y concluyeron que *M. globosa* es el principal agente implicado en la patogénesis de la PV, seguido de *M. furfur*¹⁸.

3. MARCO TEÓRICO

3.1 EPIDEMIOLOGÍA

La PV es cosmopolita, pero se presenta más en zonas tropicales y es favorecida por el calor y la humedad. No existe preferencia por sexos; sin embargo, puede predominar en varones en relación 2:1 y afecta más a gente joven, entre los 15 y 45 años, aunque también es frecuente en niños en donde afecta principalmente la región centro facial y se desarrolla con facilidad en adolescentes, sobre áreas de piel con intensa secreción sebácea¹⁹.

En países de clima templado aumenta en verano y otoño con una prevalencia de un 5% en relación a todas las micosis superficiales. En los trópicos y subtrópicos se ha informado una prevalencia de hasta del 50% en México, Samoa, Fiji, América Central y del Sur, del 28% en la India, específicamente en Calcuta, del 16.6% en África central, del 42% en Cuba, las Indias Occidentales, la región del Mediterráneo y Nueva Guinea y del 36% en Brasil²⁰.

3.2 ETIOLOGÍA

La PV es una dermatosis causada por especies del género *Malassezia*¹¹. Este género incluye levaduras lipofílicas, cuyo hábitat natural es la piel de los seres humanos y otros animales de sangre caliente. La mayoría de las especies requieren de ácidos grasos de cadena media y larga como fuente de carbono^{8, 15}.

Las características morfológicas útiles para la diferenciación de *Malassezia* de otras levaduras son células esféricas, ovales o cilíndricas, dependiendo de la especie, y la producción de blastoconidios por un proceso de gemación enteroblástica, monopolar o simpodial, dejando una cicatriz prominente en el lugar de la gemación en la célula madre. Algunas especies pueden desarrollar pseudomicelio *in vivo* e *in vitro*. La pared celular es muy gruesa y multiestratificada, sus principales componentes son azúcares, proteínas, lípidos y pequeñas cantidades de nitrógeno y azufre¹.

Se reconocen 14 especies de *Malassezia* causantes de la PV. En Index Fungorum y en Mycobank se enlistan 20 especies del género^{23, 24}; sin embargo, algunas son sinónimos, pertenecen a otro género o no se sabe su estatus actual. *Malassezia macfadyeni* Castell. y *M. ovalis* (Bizz.) Acton & Panja son sinónimos de *M. furfur*, *M. mansonii* (Castell.) Verdun corresponde a *Exophiala mansonii* (Castell.) de Hoog. De *M. muris* (Gluge & d'Ukedem) Escomel, *M. tropica* (Castell.) Schmitter y *M. ochoterenai*

Maecke) no existen reportes desde que se describieron. Las especies, descritas por sus aspectos morfológicos, bioquímicos y moleculares, que actualmente se consideran como causantes de PV se muestran en la Tabla 1^{21, 22}.

Tabla 1. Características de las especies de *Malassezia* (Tomado de Bonifaz, 2012).

Especie	Macroscópica	Microscópica
<i>Malassezia caprae</i> J. Cabañes & Boekhout	ADm a 32°C forma colonias pequeñas de 0.5-1.8 mm de diámetro, blanquecinas. lisas mate o brillantes, moderadamente convexas, margen completo	Células de 2.7-4.5 X 1.7-4.5 µm, ovoides o esféricas, con gemas unipolares de base estrecha
<i>M. cuniculi</i> J. Cabañes & G. Castellà	LNA a 32°C forma colonias pequeñas de 0.5-2 mm de diámetro, blanquecinas, convexas, consistencia cerosa	Células de 2.5 µm, globosas a alargadas, con gemas unipolares de base estrecha
<i>M. dermatis</i> Sugita, M. Takash, A. Nishikawa & Shinoda	ADm a 32°C forma colonias convexas de margen continuo o lobulado	Células de morfología variable, esféricas, ovales y elipsoides, de 2-3 X 2-10 µm
<i>M. equina</i> J. Cabañes & Boekhout	ADm a 32°C forma colonias pequeñas de 0.5-2 mm de diámetro, blanquecinas, lisas mate o brillantes, moderadamente convexas	Células de 2.8-4.7 x 1.2-3.1 µm, ovoides, con gemas monopolares de base estrecha
<i>M. furfur</i> (C.P. Robin) Baill	ADm a 32°C forma colonias opacas, lisas, con una elevación convexa central y ligeramente plegadas	Células de tamaño y forma variable, ovales a cilíndricas de 1.5-3 x 2.5-8 µm o esféricas de 2.5-5 µm, gemas con base ancha. Puede formar filamentos
<i>M. globosa</i> Midgley, E. Guého & J. Guillot	ADm a 32°C forma colonias de 4 mm de diámetro, elevadas, plegadizas y rugosas, con textura generalmente áspera y quebradiza	Células de 2.5-8 µm, esféricas, con gemas formadas en una base angosta
<i>M. japonica</i> Sugita, M. Takash., M. Kodama, Tsuboi & A. Nishikawa	LNA a 32°C forma colonias amarillo pálido, semibrillantes a opacas, plegadas, de borde completo a lobulado	Células de 2.5 X 2.7 µm, esféricas, ovales o elipsoides, con gemación simpodial
<i>M. nana</i> Hirai, R. Kano, Makimura, H. Yamag. & A. Haseg	ADm a 32°C forma colonias de 2 mm de diámetro, amarillas, brillantes a opacas, lisas, convexas, blandas, viscosas	Células, de 1.3 X 2.5 µm, ovoides o globosas, con gemación monopolar en una base estrecha
<i>M. obtusa</i> Midgley, J. Guillot & E. Guého	ADm a 32°C forma colonias de 4 mm de diámetro en promedio, lisas, planas	Células grandes de 1.5-2 X 4-6 µm, cilíndricas, gemas en una base ancha. Puede formar filamentos en cualquier punto de la célula madre
<i>M. pachydermatis</i> (Weidman) C.W. Dodge	ADS a 32°C forma colonias de 5 mm de diámetro, mate, convexas, algunas veces umbonadas, de textura lisa a arrugada, con bordes lobulados.	Células pequeñas de 2-2.5 X 4-5 µm, ovaladas, forman gemas en una base ancha
<i>M. restricta</i> E. Guého, J. Guillot & Midgley	ADm a 32°C forma colonias lisas en el centro y ásperas en los bordes, de textura dura y frágil	Células de 1.5-2 x 2.5-4 µm, esféricas u ovaladas, forman gemas en un base relativamente estrecha
<i>M. slooffiae</i> J. Guillot, Midgley & E. Guého	ADm a 32°C forma colonias de 3 mm en promedio, rugosas, usualmente con pequeñas aberraciones en el borde	Células cortas de 1-2 X 1.5-4 µm, cilíndricas, forman gemas en una base ancha
<i>M. sympodialis</i> R.B. Simmons & E. Guého	ADm a 32°C forma colonias brillantes, lisas, planas con una ligera elevación central	Células de 1.5-2.5 X 2.6-6 µm, ovales a globosas, gemación repetitiva o simpodial
<i>M. yamatoensis</i> Sugita, M. Takash., Tajima, Tsuboi & A. Nishikawa	LNA a 32°C forma colonias blanquecino amarillentas, semibrillantes, rugosas o algunas veces replegadas, con margen entero	Células de 2-4.5 X 2-7.5 µm, ovales o elipsoides, con gemas formadas en una base estrecha

3.3 PATOGENIA

Entre los mecanismos patógenos de *Malassezia* se encuentra la capacidad queratolítica que produce la ruptura mecánica o química de la queratina de las células invadidas. Clínicamente se observa una ligera descamación de la piel^{8,21}. Por otro lado, este género produce una enzima con actividad lipoxigenasa que resulta en la producción de lipoperóxidos, que dañan las membranas celulares e interfieren en la actividad celular.

Se han propuesto diversas teorías para dar una explicación a las variedades del cromatismo presentes en la PV, entre las que destacan para la variedad hipocrómica: el bloqueo en la transferencia del melanosoma al queratinocito, la producción de compuestos indólicos que son potentes filtros UV, la inhibición del ácido azelaico, ácido dicarboxílico y pitiriacitrina segregadas por la levadura que influyen en la síntesis de la tirosinasa (enzima productora de la melanina), y para la variedad hiperocrómica: el incremento en el tamaño de los melanosomas y la distribución de éstos sobre la epidermis^{8,21}.

3.4 CLASIFICACIÓN CLÍNICA

La PV se clasifica por diversos aspectos, entre los que se encuentran²⁵:

- **LOCALIZACIÓN:** localizada, diseminada y eritrodérmica.
- **DISPOSICIÓN:** punteada, numular, reticular, folicular o pseudopapular.
- **CROMATISMO:** hiperocrómica, hipocrómica, post-lesional y atrófica.

En la PV se aprecian múltiples máculas o placas de evolución progresiva, con descamación furfurácea superficial muy fina, lesiones eritematosas hipopigmentadas en 85% e hiperpigmentadas en 15%, marrones de distinta tonalidad, diseminadas, entreveradas con áreas de piel normal. Las máculas se presentan con más frecuencia en áreas seboreicas del cuello, tronco y raíz de los miembros superiores, en forma bilateral y con tendencia a la simetría²⁵.

En las áreas endémicas para las dos variedades se encuentran diferencias que demuestran la influencia del calor y la humedad, por ejemplo, los taxistas la presentan en la espalda, las secretarías o personas que permanecen mucho tiempo sentadas en los glúteos².

No es frecuente observar máculas de varios colores en un mismo paciente, por lo general se presenta una sola variante²⁸. El color de las máculas depende de la tonalidad de la piel del paciente, la cantidad de sudoración, actividad y metabolismo individual; se han descrito tonalidades amarillentas, blanquecinas, marrones y ocre. En pacientes de piel clara las lesiones pueden pasar inadvertidas, haciéndose evidentes sólo bajo la luz de Wood²⁹.

Se ha pensado que la forma eritematosa es una etapa congestiva de la hipocrómica, bajo condiciones extremas de calor y humedad (deportistas, exposición solar intensa en playas) que vuelve a su aspecto inicial al disminuir estos factores. Es importante señalar que la piel cabelluda constituye un reservorio habitual del hongo, por ello los tratamientos deben incluir el uso de champú antimicótico en esta área. En la mayoría de los casos la sintomatología es escasa o nula, pero al igual que en la etapa congestiva, los factores de calor y humedad aumentados, pueden originar prurito leve a moderado³⁰.

3.5 DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

El diagnóstico clínico suele ser acertado. No obstante, en los casos dudosos es útil practicar pruebas diagnósticas de laboratorio como el examen directo con azul de metileno, la luz de Wood, histopatología y el cultivo²⁶.

3.5.1 EXAMEN DIRECTO

La forma adecuada para demostrar la presencia del hongo es por medio del examen directo de las escamas con KOH al 20%. Un método más sencillo, es colocar un pedazo de cinta adhesiva transparente sobre las lesiones, desprendiéndola posteriormente para su examen microscópico. Se pueden utilizar colorantes de contraste, como el azul de metileno, tinción de Albert o negro de clorazol, que ayudarán a visualizar los elementos micóticos en forma de racimos de levaduras redondas y filamentos cortos, los que se han descrito como imagen de "espagueti con albóndigas"¹.

3.5.2 LUZ DE WOOD

La lámpara de Wood produce una luz ultravioleta de longitud de onda de 365 nm. Cuando las ondas emitidas por la lámpara impactan con la piel, se produce una fluorescencia visible, ya que el hongo produce pitiriacitrina causante de dicho efecto³⁰.

Por lo tanto, el uso de la luz de Wood es uno de los auxiliares de diagnóstico de mayor utilidad, en donde se aprecia la típica tonalidad amarillo verdosa, que sirve tanto para valorar la actividad del padecimiento como para comprobar la efectividad del tratamiento al desaparecer dicha fluorescencia. El paciente no debe ducharse en el período previo al examen, ni aplicar cremas o medicamentos tópicos, de 24 a 48 hrs previas^{1,26}.

3.5.3 HISTOPATOLOGÍA

Cuando se realiza la biopsia de las lesiones observamos hifas y esporas (blastoconidios) en la superficie de la capa córnea, sin que su presencia provoque ninguna reacción epidérmica, ni exista infiltrado inflamatorio en la dermis subyacente. Estas esporas e hifas se evidencian fácilmente con la tinción de hematoxilina-eosina, aunque se hacen más patentes con la tinción de PAS (ácido periódico-de Schiff)¹⁹.

3.5.4 CULTIVO

El cultivo sólo se realiza en la práctica para estudios de investigación o bien cuando se sospecha de una infección sistémica. Cuando se lleva a cabo, se recurre a medio de Sabouraud enriquecido con ácidos grasos de cadenas largas, como aceite de olivo y ácido oleico al 10%, incubado entre los 35 a 37 °C. Se han descrito características fisiológicas y bioquímicas para diferenciar o caracterizar las especies de *Malassezia*. Entre ellas se encuentran la reacción de la catalasa, hidrólisis de la esculina, capacidad de crecer a diferentes temperaturas o los diversos patrones de asimilación de Tween (20, 40, 60 y 80). Éstas y otras pruebas permiten identificar satisfactoriamente las especies de *Malassezia* con medios al alcance de la mayoría de los laboratorios de micología⁷.

3.5.5 DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

Para la variedad hipocromiante: se observan máculas blancas, que se pueden confundir con pitiriasis alba, dermatitis solar hipocromiante, sífilides hipocromiantes (collar de Venus), leucodermia residual, intertrigo calórico, casos indeterminados de lepra, eccemátides y el vitiligo para los casos acromiantes.

Para la variedad hipercromiante: se observan máculas con un pigmento oscuro que pueden estar presentes en pitiriasis rosada, nevos melanocíticos, melasma, melanodermias post-lesionales, lentigos, efélides y manchas “café con leche”⁸.

4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Dentro de las micosis superficiales, la PV es la segunda causa de consulta dermatológica, sólo por debajo de las dermatofitosis. Por varios años se mencionó que *Malassezia furfur* era el agente responsable de esta infección, sin embargo, a través del tiempo se ha reportado una serie de especies que se han involucrado con esta micosis, predominando *M. globosa* como la más aislada. Hasta 2013 se conocen 14 especies que provocan la PV. Sin embargo, en México hay pocos estudios al respecto y particularmente en la región occidente y en Jalisco, no existen trabajos que describan las especies de este género de levaduras. Por este motivo, es importante realizar un estudio que demuestre qué especies están involucradas en los pacientes que presentan PV en esta región.

5. JUSTIFICACIÓN

La PV es una micosis frecuente en nuestro medio y es producida por un grupo de levaduras del género *Malassezia*. En Jalisco y en particular en el Instituto Dermatológico de Jalisco "Dr. José Barba Rubio" no se han registrado las especies involucradas en la enfermedad. En México, existen pocos estudios sobre la tipificación de estas levaduras. Diversos autores mencionan que el agente más aislado es *M. globosa*. La relevancia de este trabajo es conocer mejor la etiología de la PV en Jalisco y conocer algunos de sus aspectos clínicos.

6. HIPÓTESIS

En pacientes con PV del Instituto Dermatológico de Jalisco “Dr. José Barba Rubio”, la especie aislada más frecuente es *Malassezia globosa*.

7. OBJETIVOS

7.1 Objetivo General

Tipificar las especies que producen PV en pacientes del Instituto Dermatológico de Jalisco "Dr. José Barba Rubio"

7.2 Objetivos Específicos

7.2.1 Tipificar las especies que producen PV por medio de las pruebas bioquímicas y fisiológicas.

7.2.2 Analizar y/o correlacionar las características clínicas y micológicas de los pacientes con PV.

8. MATERIAL Y MÉTODOS

8.1 TIPO DE ESTUDIO: Transversal, observacional y descriptivo.

8.2 CONSIDERACIONES ÉTICAS: De acuerdo al Reglamento de la Ley General de Salud en materia de investigación para la salud, en el Título Segundo, Capítulo I, Artículo 17, Categoría I.- Investigación sin riesgo: Son estudios que emplean técnicas y métodos de investigación documental retrospectivos y aquéllos en los que no se realiza ninguna intervención o modificación intencionada en las variables fisiológicas. Por lo que no se solicitó carta de consentimiento por escrito, y solo aceptación verbal por los pacientes y en caso de menores por los padres o tutores.

8.3 SEDE DEL ESTUDIO: Centro de Referencia en Micología (CEREMI) del Instituto Dermatológico de Jalisco “Dr. José Barba Rubio”

8.4 UNIVERSO: Todos aquellos pacientes que presentaron PV.

8.5 TAMAÑO DE LA MUESTRA: Se seleccionó una muestra no probabilística por conveniencia de 50 pacientes con PV.

8.6 CRITERIOS DE INCLUSIÓN:

- 1) Cultivo positivo para *Malassezia*
- 2) Ambos sexos
- 3) Cualquier edad
- 4) Aceptación verbal para participar

8.7 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN:

- 1) Pacientes con diagnóstico clínico de PV pero con cultivo negativo.
- 2) No deseen contestar el cuestionario epidemiológico.

8.8 EQUIPOS

Microscopio óptico, incubadoras reguladas a 32 y 35 °C, autoclave, cámara digital.

8.9 MEDIO DE CULTIVO

Para el aislamiento primario se utilizó el medio ADS con (5%) y sin aceite de oliva extra virgen estéril.

8.10 COLECCIÓN DE LAS MUESTRAS

Los pacientes que acudieron a consulta al Instituto Dermatológico de Jalisco "Dr. José Barba Rubio" y que fueron remitidos por el médico al CEREMI, con estudio micológico (Anexo 1) y diagnóstico presuntivo de PV, se les llevó a un área oscura para aplicar la luz de Wood en las zonas de lesiones hiper o hipo pigmentadas, para ver si éstas mostraban fluorescencia. En las zonas positivas a la fluorescencia se practicó examen directo con cinta adhesiva transparente y azul de metileno, así como el raspado de las escamas con portaobjetos que se colectaron en caja de Petri para el cultivo.

8.10.1 Examen directo con cinta adhesiva transparente y azul de metileno

Se realizó el signo de Beznier, el cual consiste en estirar la piel donde se encuentran las máculas con los dedos pulgares, con el fin de que se levante la escama de la lesión. Se coloca un trozo de cinta adhesiva transparente sobre la lesión, se retira y se coloca sobre un portaobjetos, se añade a la cinta azul de metileno que se transfiere a la muestra por capilaridad. Se observa en el microscopio de luz bajo el objetivo seco fuerte (40x), y se buscan las formas parasitarias de *Malassezia*.

8.10.2 Cultivo

Las escamas depositadas en la caja de Petri se sembraron en tubos con medio de cultivo ADS al que se añadió aceite de oliva estéril y se incubaron a 35 °C por una semana. También se sembró en medio de cultivo ADS sin aceite a 32 °C, si se presentó desarrollo se trataba de *M. pachydermatis*, ya que es la única especie no lipodependiente. El crecimiento de las colonias se revisó constantemente y se confirmó la presencia de *Malassezia* por medio de la tinción de Gram, para observar levaduras con o sin blastoconidios. A todos los pacientes con PV y cultivo positivo a *Malassezia*, se les practicó un cuestionario clínico y epidemiológico (Anexo 2).

8.10.3 Tipificación

Se aplicaron las pruebas de asimilación de diversos Tween (20, 60, 80), de acuerdo a lo establecido por Guillot y col.³¹ (Anexo 5), complementado con el uso de aceite de ricino puro. Se utilizó el siguiente procedimiento:

Se elaboró medio ADS estéril y se colocó en cajas de Petri con un grosor de 2 mm. Posteriormente se hicieron cuatro orificios al agar de 2 mm de diámetro cada uno. La muestra obtenida del aislamiento primario se inoculó en el ADS con un hisopo estéril, y se llenó cada orificio con Tween (20, 60, 80) y aceite de ricino, respectivamente. Las cajas se incubaron a 32 °C durante siete días. Al cabo de dicho periodo se evaluó la

utilización de dichos compuestos por parte de las levaduras. Además se realizó la tinción de Gram para comprobar que se trataba de las especies de estudio, y continuar con las siguientes pruebas.

8.10.4 Reacción de la catalasa

Para esta prueba se tomó una muestra del crecimiento obtenido en la asimilación de los diversos Tween, ya que del aislamiento primario fue muy difícil obtener una muestra sólida, debido al aceite que se le agregó a dichos cultivos. Se utilizó peróxido de hidrógeno a 10 volúmenes, siguiendo el método del porta objetos y el método del tubo de ensayo. El resultado de una reacción positiva fue cuando se presentó la formación de burbujas de gas.

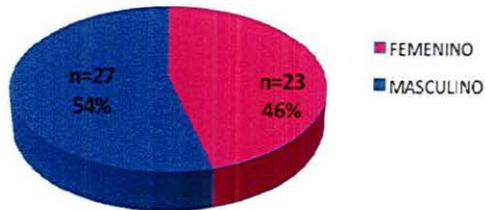
8.10.5 Desdoblamiento de la esculina

Se utilizó el medio de bilis esculina, en donde se sembró la levadura directamente y se incubó a 35 °C durante tres días. La reacción positiva corresponde al viraje negro al desdoblarse la esculina en esculina y glucosa.

9. RESULTADOS

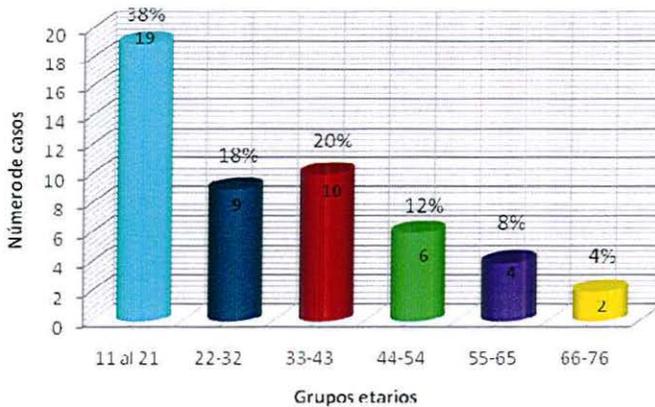
De los 50 pacientes estudiados en cuanto a la distribución por sexo, encontramos un ligero predominio en el género masculino, con 27/50 casos (54%) (Gráfico1).

GRÁFICO 1. Distribución de los pacientes con Pitiriasis versicolor por sexo.



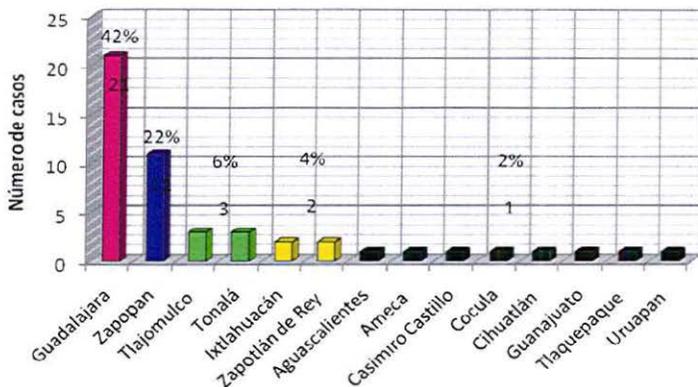
La PV se presentó en todas las edades, ya que en este estudio el paciente más joven fue de 11 años y el mayor de 71 años. El grupo etario más observado fue el comprendido entre los 11 a 21 años en 19 pacientes (38%), seguidos del grupo de 33 a 43 años en 10 pacientes (20%) (Gráfico 2).

GRÁFICO 2. Distribución de los pacientes con Pitiriasis versicolor por grupos de edad.

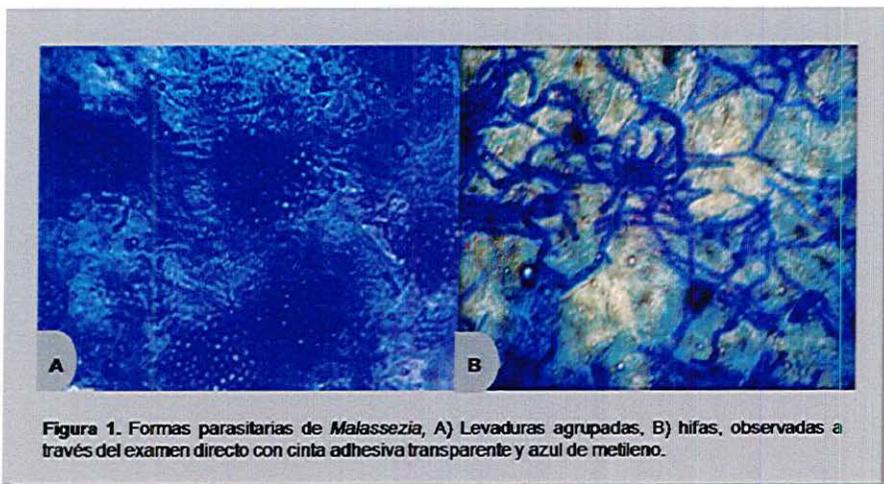


La procedencia de los pacientes estudiados fue de cuatro estados de la República Mexicana: Aguascalientes, Guanajuato, Jalisco y Michoacán. Los pacientes de Jalisco fueron los más frecuentes, y provenían de 11 municipios; Guadalajara fue del que se registró un mayor número de pacientes, con 21/50 (42%) (Gráfico 3).

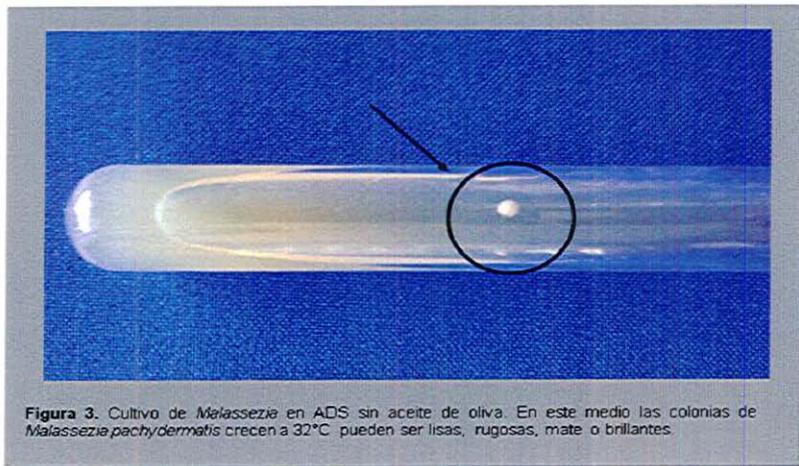
GRÁFICO 3. Lugar de procedencia de los pacientes con Pitiriasis versicolor



A través del examen directo con cinta adhesiva transparente y azul de metileno se observaron células globosas u ovales que midieron entre 1.5 a 7 µm, además de hifas, lo que permitió establecer el diagnóstico de PV (Figura 1).

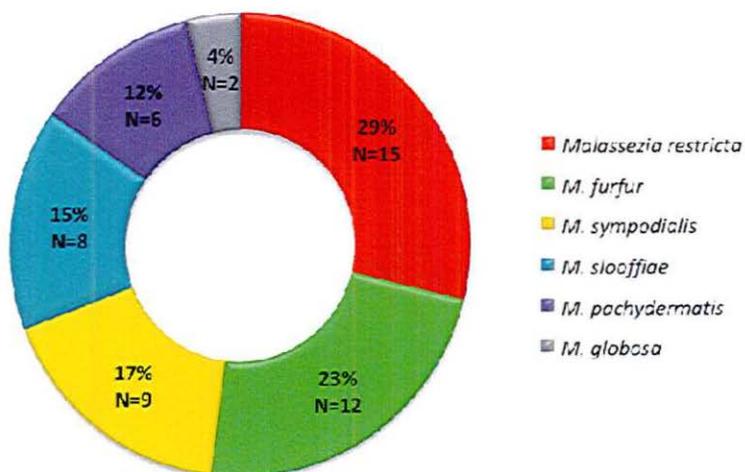


En las 52 cepas aisladas en los pacientes con PV, en agar ADS con y sin aceite de oliva 48 correspondieron en su morfología macroscópica a colonias cremosas, amarillentas y rugosas, excepto los seis aislamientos de *M. pachydermatis* cuyas colonias fueron lisas, elevadas, blanquecinas y cremosas (Figuras 2-3).



En este estudio se tipificaron seis especies de *Malassezia* (Gráfico 4) de las 14 descritas, por medio de la asimilación de Tween (20, 60, 80 y AR) (Figura 4), pruebas de la catalasa y de la esculina. La especie más frecuente fue *M. restricta* con 15/52 aislamientos (28.9%), seguida de *M. furfur* con 12/52 (23%). Es importante señalar que en dos pacientes se aislaron dos especies diferentes (infección mixta) (Tabla 2). Se realizó la tinción de Gram en los cultivos que presentaron desarrollo para comprobar la morfología y tamaño de las levaduras aisladas (Figura 7).

GRÁFICO 4. Especies tipificadas de *Malassezia*.



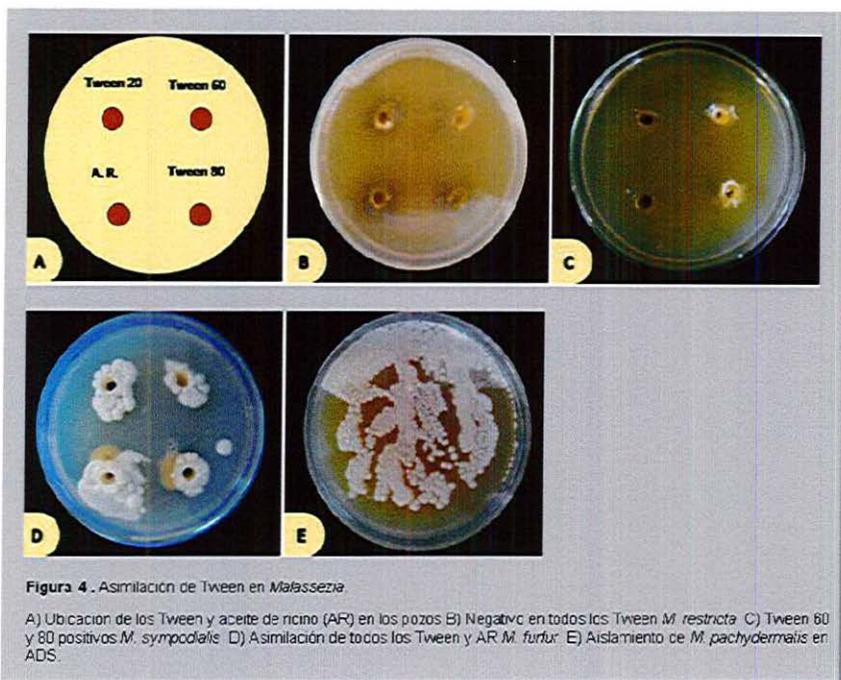
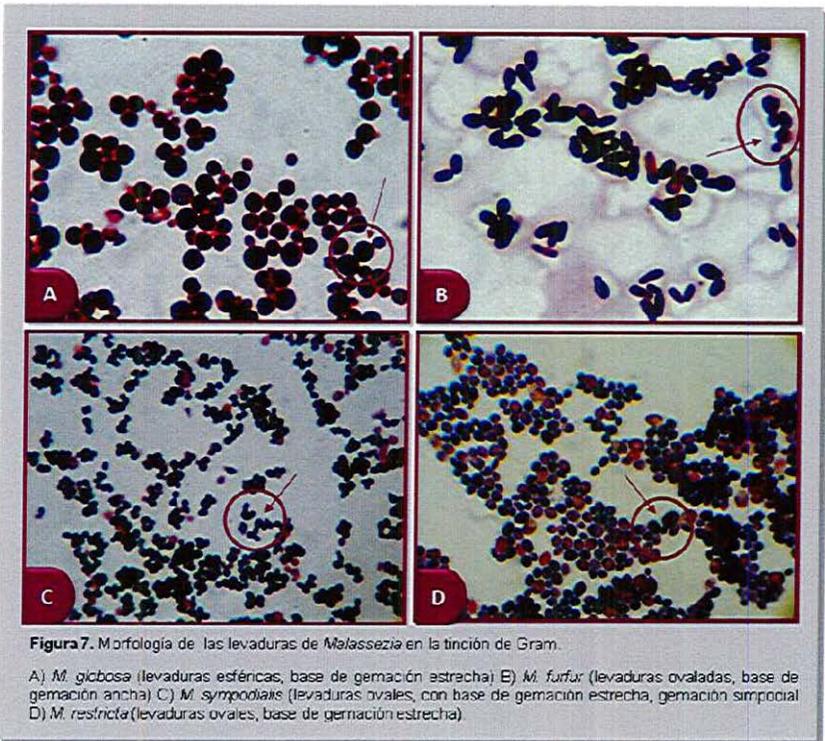


Tabla 2.- Especies de *Malassezia* tipificadas en los pacientes estudiados.

Especies	Número de pacientes	%
<i>M. restricta</i>	15	28.9%
<i>M. furfur</i>	12	23%
<i>M. sympodialis</i>	9	17.3%
<i>M. slooffiae</i>	8	15.3%
<i>M. pachydermatis</i>	6	11.6%
<i>M. globosa</i>	2	3.9%
Total : 6	52	100



La prueba de la catalasa se realizó a todas las levaduras y resultó positiva para 37/52 cepas, y negativa para 15/52. En estas 15 cepas se comprobó que se trataba de *M. restricta*, con esta prueba ya que es la única especie que es catalasa negativa (Figura 5).

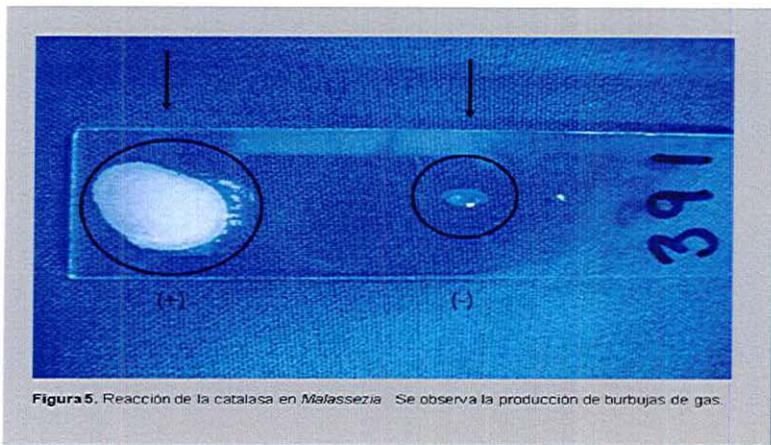


Figura 5. Reacción de la catalasa en *Malassezia*. Se observa la producción de burbujas de gas.

La prueba de la esculina resultó positiva en 9/52 cepas, ya que presentaron un viraje de color oscuro en el medio bilis esculina y 37/52 no la presentaron, por lo tanto se reportan como negativas (Figura 6).



Figura 6. Prueba de la esculina en *Malassezia*. Se muestra la coloración negra en el medio cuando el resultado es positivo.

En cuanto a la topografía se encontraron nueve sitios anatómicos diferentes afectados (cuatro en un solo sitio y cinco en más de uno). El área más observada fue el tronco en 27/50 pacientes (54%) (Figuras 8 y 9) del que se aislaron seis especies diferentes, predominando *M. restricta* en 10/27, seguida de *M. sympodialis* en 5/27, y *M. furfur* y

M. slooffiae con 4/27, cada una. El cuello se observó afectado en 5/50 pacientes (10%), y se aislaron tres especies, predominando *M. restricta* en 3/50 (Tabla 3).

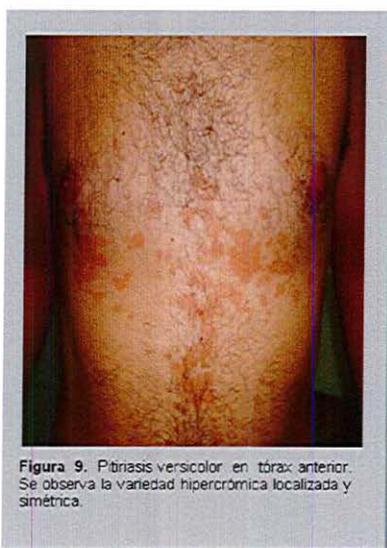
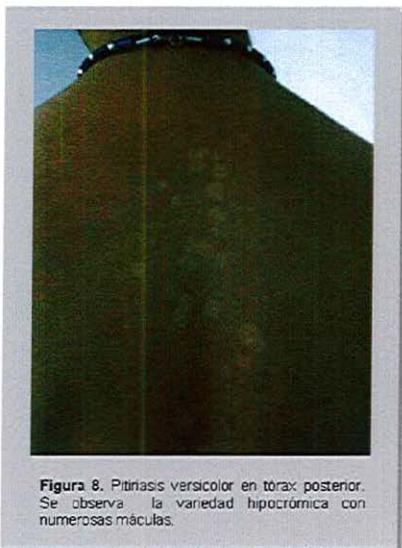


Tabla 3.- Relación de topografía anatómica y especies tipificadas de *Malassezia*.

Topografía anatómica	Especies de <i>Malassezia</i>						Total	
	<i>M. restricta</i>	<i>M. furfur</i>	<i>M. sympodialis</i>	<i>M. slooffiae</i>	<i>M. pachydermatis</i>	<i>M. globosa</i>	N	%
Tronco	10	4	5	4	2	2	27	54
Cuello	3	1			1		5	10
Tronco/brazos	1			3	1		5	10
Abdomen	1	1	1		1		4	8
Tronco/cara		2			1		3	6
Tronco/cuello		2					2	4
Cuero cabelludo			1	1			2	4
Cara/brazos			1				1	2
Muslo		1					1	2
TOTAL							50	100

La PV por su localización, se divide en tres tipos, en este trabajo observamos dos, predominando la localizada en 38/50 (76%) (Tabla 4).

Tabla 4.- Localización de las lesiones de Pitiriasis versicolor.

Localización				TOTAL N %
Localizada		Diseminada		
N	%	N	%	
38	76	12	24	50 100

En los 50 pacientes estudiados, sólo se observaron dos tipos de disposición de las lesiones de PV de los cuatro que se pueden presentar, la numular y la reticular, predominando la primera con 49/50 (98%) (Tabla 5, Figura 10).

Tabla 5.- Disposición de las lesiones de PV.

Disposición		
	N	%
Numular	49	98
Reticular	1	2
Total	50	100



Figura 10. Pityriasis versicolor en cara. Se observan máculas hipopigmentadas en disposición numular.

En relación al cromatismo, en el presente estudio se encontraron tres variedades de las cuatro que se han descrito en la PV. La forma hipocrómica fue la que predominó en 39/50 pacientes (78%) (Figura 11), y en ésta se aisló con más frecuencia a *M. restricta* en 13/39 casos. La variedad hiperocrómica se observó en nueve pacientes (18%) (Figura 12), y *M. furfur* se aisló en 3/9 (Tabla 6).

Tabla 6.- Relación entre el cromatismo y especies tipificadas de *Malassezia*

Especies	Cromatismo		
	Hipocrómica N= 39	Mixta N= 2	Hiperocrómica N=9
<i>M. restricta</i>	13	1	1
<i>M. furfur</i>	8	1	3
<i>M. sympodialis</i>	8	1	0
<i>M. slooffiae</i>	5	1	2
<i>M. globosa</i>	1		1
<i>M. pachydermatis</i>	4		2
TOTAL (%)	78%	4%	18%

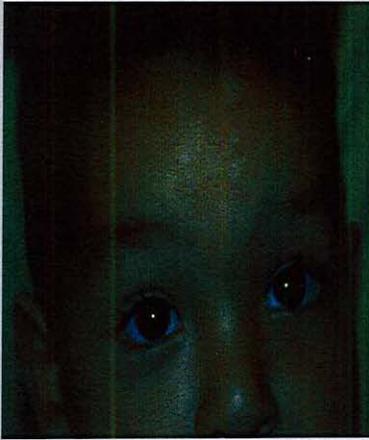


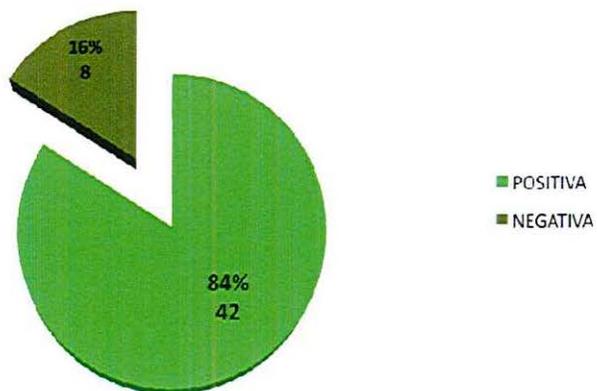
Figura 11. Pityriasis versicolor en región centroracial. Se presentan máculas hipocrómicas en un niño.



Figura 12. Pityriasis versicolor en región axilar. Se aprecian máculas hiperpigmentadas.

A los 50 pacientes estudiados se les practicó la prueba de la luz de Wood en las lesiones, encontrando en el 84% (42/50) fluorescencia positiva y sólo en el 16% (8/50) negativa (Gráfico 5, Figura 13).

GRÁFICO 5. Aplicación de luz de Wood en pacientes con Pityriasis versicolor



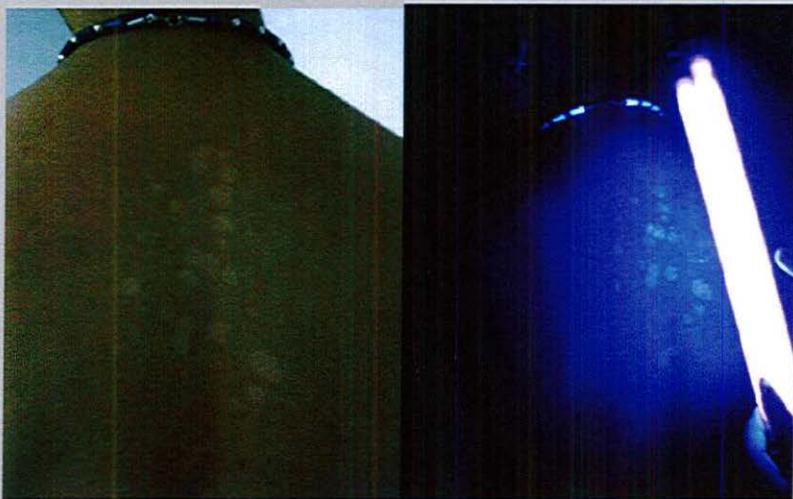


Figura 13. Aplicación de la luz de Wood para detectar la PV. Se observa la fluorescencia amarillo verdoso característica de la Pityriasis versicolor, localizada en tórax posterior con la presencia de máculas hipocrómicas.

10. DISCUSIÓN

El estudio de las levaduras del género *Malassezia* productoras de la PV ha sido un tema de gran discusión y controversia³², desde el primer trabajo publicado por Eichstedt en 1846, en donde reconoce la naturaleza fúngica de esta micosis⁸. En la actualidad, con base en características moleculares, morfológicas, fisiológicas y bioquímicas, se han realizado estudios en diversas áreas geográficas del mundo para establecer la relación y la prevalencia de especies de *Malassezia* con la PV y otras patologías¹⁴.

Hernández y colaboradores¹⁴ realizaron un estudio con metodología similar a la de este trabajo, para determinar la frecuencia y distribución de especies de *Malassezia* en pacientes con psoriasis, DS y PV, provenientes de diversos hospitales Dermatológicos de la Ciudad de México. Encontraron que las especies más frecuentes para la PV fueron *M. globosa* y *M. sympodialis*, y *M. restricta* y *M. globosa* se aislaron con más frecuencia en individuos sanos, lo que difiere de nuestro trabajo, en donde predominó *M. restricta* y *M. furfur* en pacientes con PV.

Martín y colaboradores¹⁷ analizaron la prevalencia de las especies de este género en lesiones de pacientes con PV y en individuos sanos en el servicio de Dermatología del Hospital Carlos Haya en Málaga, España. Las técnicas de identificación utilizadas por estos autores fueron similares a las nuestras; sin embargo, encontraron que *M. globosa* fue la especie más frecuente, seguida por *M. sympodialis*.

Trabelsi y colaboradores¹⁸ identificaron especies de *Malassezia* en pacientes con PV en la población de Túnez. La obtención de las muestras, el procesamiento y la identificación fueron semejantes a la metodología utilizada en este trabajo. Aislaron cinco especies: *M. globosa*, *M. furfur*, *M. sympodialis*, *M. slooffiae* y *M. pachydermatis*, y concluyeron que *M. globosa* es el principal agente implicado en la patogénesis de la PV, seguido de *M. furfur*. En nuestro trabajo tipificamos estas especies que reportan estos autores, además de *M. restricta*, la cual corresponde a la más aislada.

En Argentina, Giusiano y colaboradores¹⁶ identificaron las cepas de *Malassezia* por PCR-RFLP, y encontraron a *M. sympodialis* y *M. globosa* con mayor prevalencia (82%). Nosotros aislamos a *M. sympodialis* en tercer lugar y *M. globosa* fue la más escasa. En nuestro estudio solamente encontramos dos de 50 pacientes infecciones con asociación de especies (mixtas), en uno *M. furfur* con *M. sympodialis* y en el

segundo *M. restricta* con *M. slooffiae*. Estos autores no encontraron una relación significativa entre las especies aisladas y los lugares anatómicos de afección, además de la distribución del sexo.

Arenas²⁵ y Sunenshine y colaboradores²⁶ mencionaron que la variedad hipocrómica es la más frecuente en la PV, hasta un 85% vs. 78% de nuestro estudio. Según los autores antes mencionados²⁶, las áreas más afectadas son las zonas seboreicas y expuestas al sol como tronco anterior y posterior, lo que coincide con nuestro trabajo, además la disposición numular fue la más observada por estos autores y por nosotros.

Como se indicó en resultados, en algunos pacientes la prueba de la luz de Wood fue negativa. Esto fue debido a que se aplicaron crema corporal o se bañaron el día del estudio, lo que repercutió en el resultado de esta herramienta diagnóstica.

11. CONCLUSIONES

- 1 De las 14 especies descritas del género *Malassezia*, solamente se aislaron seis: *Malassezia restricta*, *M. furfur*, *M. sympodialis*, *M. slooffiae*, *M. pachydermatis* y *M. globosa*. *Malassezia restricta* fue la especie más aislada y tipificada en pacientes con PV en el Instituto Dermatológico de Jalisco.
- 2 Se esperaba aislar a *M. globosa* como la especie más frecuente; consideramos que probablemente las condiciones climáticas y el tipo de población diferente de otras regiones geográficas pudieron ocasionar estos resultados.
- 3 Este estudio es el primero en Jalisco que tipifica el género *Malassezia* en pacientes con PV a través de características bioquímicas y fisiológicas; sin embargo, será necesario en un futuro realizar técnicas de biología molecular que permitan validar estos resultados.

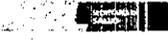
12. BIBLIOGRAFÍA

1. **Méndez TL, López R, Hernández F.** Actualidades en Micología Médica. 4ed. México: Facultad de Medicina, UNAM; 2008.
2. **Balleste R, Fernández N, Calegari L, Gezuele E.** Pitiriasis versicolor en lactantes. *Rev Med Uruguay* 2000; 16:257-260.
3. **Arenas R, Isa R, Cruz A.** Pitiriasis versicolor en Santo Domingo, República Dominicana. Datos morfológicos de *Malassezia* spp. *in vivo* en 100 casos. *Rev Iberoam Micol* 2001; 18:29-32.
4. **González E, Delmonte MA, Robertiz S, Fernández P, Mesa L, Rodríguez S.** Colonización de especies de *Malassezia* en piel sana de niños en edad preescolar. *Kasmera* 2011; 38(2):107-113.
5. **Hernández J.** Caracterización molecular de especies del género *Malassezia* (tesis doctoral). Barcelona: Universidad Autónoma de Barcelona; 2005.
6. **Sosa MA, Giusiano G, Mangiaterra M, Bustillo S.** Agentes etiológicos de pitiriasis versicolor. *Corrientes: UNNE 2005* [consultado 5 Mar 2012]. Disponible en: <http://www.unne.edu.ar/Web/cyt/com2005/3-Medicina/M-015.pdf>.
7. **Aspiroz MC, Moreno LA, Rubio MC.** Taxonomía de *Malassezia furfur*. estado de la cuestión. *Rev Iberoam Micol* 1997; 14:147-149.
8. **Giusiano GE.** *Malassezia* estado del conocimiento y perspectivas en su estudio. *Rev Argent Microbiol* 2006; 38:41-48.
9. **Gordon MA.** *Malassezia pityrosporum pachydermatis* (Weidman) Dodge 1935. *Sabouraudia* 1979; 17:305-309.
10. **Castellani A, Chalmers AJ.** *Pityrosporum ovale*. En: Castellani A, Chalmers AJ. Editores. *Manual of Tropical Medicine*. London, Baillere Tindall and Cox, 1913; p.1747.
11. **Ingham E, Cunningham C.** *Malassezia furfur*. *J Med Vet Mycol* 1993; 31:265-288.
12. **Guého E, Midgley G, Guillot J.** The genus *Malassezia* with description of four new species. *Antonie van Leeuwenhoek* 1996; 69: 337-355.
13. **Sosa MA, Deluca GD, Giusiano GE, Mangiaterra ML.** Modificación de la técnica de PCR-RFLP de Mirhendi y col para diferenciación y tipificación de 11 especies de *Malassezia*. *UNNE 2006*; 122-124.

14. **Hernández F, Méndez LJ, Mora EB, López AA, Bermejo AV, Martínez R.** Especies de *Malassezia* asociadas a diversas dermatosis y a piel sana en población mexicana. Rev Iberoam Micol 2003; 20:141-144.
15. **Mirhendi H, Makimura K, Zomorodian K, Yamada T, Sugita T, Yamaguchi H.** A simple PCR-RFLP method for identification and differentiation of 11 *Malassezia* species. J Microbiol Methods 2005; 61:281-284.
16. **Giusiano G, Sosa MA, Rojas F, Vanacore ST, Mangiaterra M.** Prevalence of *Malassezia* species in pityriasis versicolor lesions in northeast Argentina. Rev Iberoam Micol 2010; 27:71-74.
17. **Trinidad M, González M, Erchiga VC, González ES, Moyano EG.** Distribución de las especies de *Malassezia* en pacientes con pityriasis versicolor y en individuos sanos. Piel 2010; 25(10): 552-560.
18. **Trabelsi S, Oueslati J, Fekinh N, Kamoun M, Khaled S.** Identification of *Malassezia* species from Tunisian patients with pityriasis versicolor. La Tunisie Medicale 2010; 88(2):85-87.
19. **Requena L.** Pityriasis versicolor. En: Herrera E, Moreno A, Requena L, Rodríguez-Peralto JL. Editores. Dermatopatología: Correlación Clínica Patológica. Barcelona: Signament; 2007; 487-490.
20. **Ochoa De Quinzada MM.** Estudio de las especies de *Malassezia*, relacionadas con la patología cutánea, pityriasis versicolor en Panamá (tesis doctoral). Panamá: Universidad de Granada; 2006.
21. **Bonifaz A.** Micología Médica Básica. 4ed. México: Mc Graw Hill, 2012.
22. **Cabañes FJ, Vega S, Castella G.** *Malassezia cuniculi* sp. nov., a novel yeast species isolated from rabbit skin. Med Mycol 2011; 49(1):40-48.
23. **Mycobank.** [consultado 1 Nov 2012]. Disponible en: <http://www.mycobank.org/MycoTaxo.aspx>
24. **Index Fungorum** [consultado 1 Nov 2012]. Disponible en: <http://www.indexfungorum.org/names/Names.aps>
25. **Arenas R.** Micología Médica Ilustrada. 3ed. México: Mc Graw Hill, 2008.
26. **Sunenshine PJ, Schwartz RA, Janniger CK.** Tinea versicolor. Int J Dermatol. 1998; 37:648-655.

27. **Erchiga-Crespo V, Ojeda-Martos A, Vera-Casao A, Crespo-Erchiga A, Sánchez Fajardo M, Gueho E.** Micología de la pitiriasis versicolor. *Mycol J Med* 1999; 9:143-148.
28. **Larrondo RJ, González AR, Hernández LM.** Micosis superficiales. Candidiasis y pitiriasis versicolor. *Rev Cubana Med Gen Integr* 2001; 17:565-571.
29. **Gupta AK, Bluhm R, Summerbell R.** La pitiriasis versicolor. *Eur J Acad Dermatol Venereol* 2002, 16:19-33.
30. **Bassoti De Ahuad AE, Dibran NE, Parra De Cantu V, Magnelli NC.** Dermatología: Semiología Sistematizada. Mendoza: Ediunc, 2007.
31. **Guillot J, Gueho E, Lesourd M, Midgley G, Chévrier G, Dupont B.** Identification of *Malassezia* species. A practical approach, *J Mycol Med* 1996.; 6:103-110.

ANEXO 1 Estudio micológico



O.P.D. SERVICIOS DE SALUD JALISCO
INSTITUTO DERMATOLÓGICO DEL ESTADO
DR. JOSÉ BARBA RUBIO
CENTRO ESTATAL DE REFERENCIA EN MICOLOGÍA MÉDICA



CEREMM

Fecha	No. Expediente	No. Estudio
Nombre del paciente		
Sexo		
Edad		
Profesión		
Municipio		
Estado		

SOLICITUD DE ESTUDIO MICOLÓGICO

Diagnóstico de referencia por prescripción

Topografía

Morfología

Resistencia a terapia

Evolución

Tratamientos previos

Estado sintomático

México correspondiente

Examen de

Observaciones

INDICACIONES

****Favor de anexar hoja de referencia y/o resumen clínico****

NOTA: Si existe un proceso existente relacionado en la historia estudiar favor de marcarlo con un círculo antes de practicar el estudio micológico.

RECOMENDACIONES: Orientar al paciente para que se presente únicamente con el tipo de lesión que se va a estudiar, indicando claramente que una vez finalizado el estudio **"no debe aplicarse nada"** además deberá suspender todo tipo de tratamiento tópico por lo menos una **semana antes**. El cumplimiento del objetivo de proporcionar mejores resultados.

****La toma de muestra se debe realizar únicamente de lunes a viernes de 9:30 a 11:30 de la mañana****

SEM 116

ANEXO 2 Cuestionario epidemiológico

Nombre:

Núm. de registro:

Edad:

Sexo:

Fecha:

Procedencia:

Ocupación:

¿En qué parte del cuerpo se presentan las manchas?

- a) Cara b) brazos c) piernas d) abdomen e) espalda f) otros

¿Qué tipo de cromatismo presentan?

- a) Hipocrómico b) hiperocrómico c) post-lesional d) atrófico

¿Localización de las manchas?

- a) Localizada b) diseminada c) eritrodérmica

¿Disposición de las manchas?

- a) Punteada b) numular c) reticular d) folicular o pseudopapular

¿En alguna otra ocasión ha presentado estas manchas?

- a) Si ¿Hace cuanto?_____ b) no

¿Ha recibido algún tipo de tratamiento para estas manchas?

- a) Si ¿Cuál?_____ b) no

¿Tiempo de exposición al sol?

- a) Leve (1 a 3 hrs/día) b) moderado (4 a 7 hrs/día) c) severo (> 7 hrs/día)

¿Utiliza algún tipo de producto en el cuerpo?

- a) Cremas b) bloqueadores c) bronceadores d) aceites

¿Enfermedades concomitantes?

¿Algún factor que crea por lo que salieron sus manchas?

- a) Ir al mar b) estres c) sudoración (leve, moderada o severa)

¿Exposición a radiaciones?

- a) Estufa b) computadoras c) lámparas

¿La ropa que utiliza frecuentemente es de?

- a) Algodón b) naíon c) licra d) otro ¿Cuál?_____

¿Practica deporte a la semana?

- a) 1 vez b) 2 a 3 días c) diario d) no practica

ANEXO 3 Características fisiológicas y bioquímicas de *Malassezia* spp.

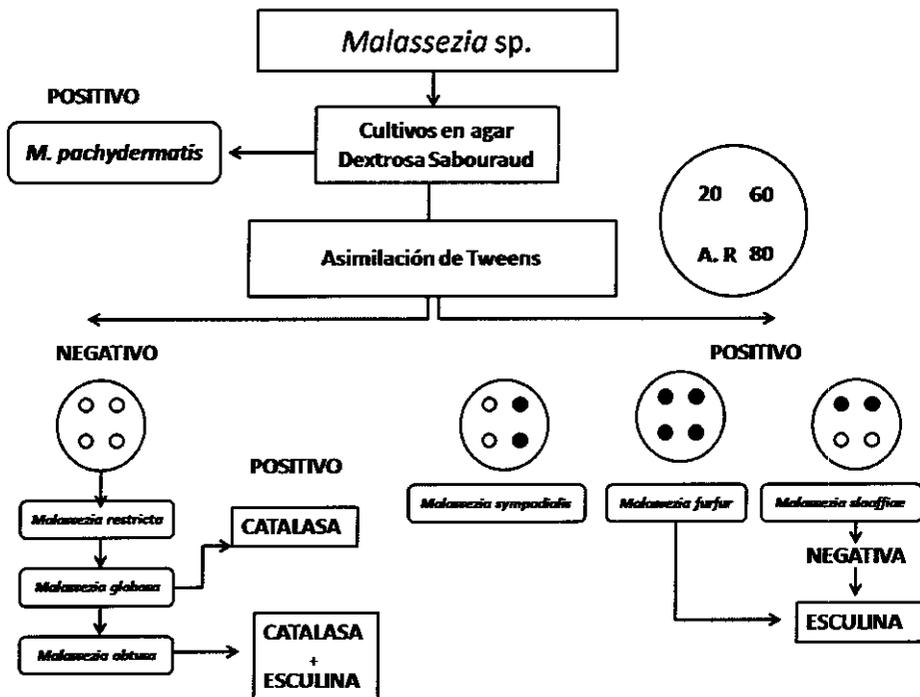
(Tomado de Bonifaz, 2012).

Especies	Morfología celular	ADS 35 °C	catalasa	esculina	Tween 20	Tween 60	Tween 80	Aceite de ricino
<i>M. caprae</i>	globosa elipsoidal	-	+	+	-	+/-	+/-	-
<i>M. cuniculi</i>	globosa	-	+	+	-	-	-	-
<i>M. dermatis</i>	elipsoidal globosa	-	+	-	+	+	+	+
<i>M. equina</i>	elipsoidal	-	+	-	-	+/-	+/-	-
<i>M. furfur</i>	globosa elipsoidal cilíndrica	-	+	-	+	+	+	+
<i>M. globosa</i>	globosa	-	+	-	-	-	-	-
<i>M. japonica</i>	globosa elipsoidal	-	+	¿	-	+	-	-
<i>M. nana</i>	elipsoidal	-	+	-	+/-	+	+/-	-
<i>M. obtusa</i>	elipsoidal cilíndrica	-	+	+	-	-	-	-
<i>M. pachydermatis</i>	elipsoidal	+	+/-	+/-	-	+	+	+/-
<i>M. restricta</i>	globosa elipsoidal	-	-	-	-	-	-	-
<i>M. slooffiae</i>	elipsoidal cilíndrica	-	+	-	+/-	+	-	-
<i>M. sympodialis</i>	elipsoidal	-	+	+	-	+	+	-
<i>M. yamatoensis</i>	elipsoidal	-	+	¿	+	+	+	-

Interpretación de símbolos: + crece; - no crece; +/- crece o crece débilmente; ¿ dato no proporcionado; ADS agar dextrosa Sabouraud.

ANEXO 4 Esquema de identificación para levaduras del género *Malassezia*

(Tomado y modificado de Bonifaz, 2012).



Claves:



Concentración de Tween y aceite de ricino



Medio base de agar Dextrosa Sabouraud

