

UNIVERSIDAD NACIONAL DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA

DESCRIPCION DE UNA NUEVA ESPECIE DE MALASSEZIA:
MALASSEZIA OCHOTERENAI, AGENTE CAUSAL DE
PITYRIASIS (TINEA) VERSICOLOR, Y POSICION
SISTEMATICA DEL GENERO MALASSEZIA.

TESIS

que presenta Margarita Maecke Simroth para optar al grado de
Maestro en Ciencias Biológicas.

México, D. F.

1942



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.

Cariñosamente a mis padres.

DESCRIPCION DE UNA NUEVA ESPECIE DE MALASSEZIA:
MALASSEZIA OCHOTERENAL, AGENTE CAUSAL DE
PITYRIASIS (TINEA) VERSICOLOR, Y POSICION
SISTEMATICA DEL GENERO MALASSEZIA

Por MARGARITA MAECKE,
del Instituto de Biología.

La nueva especie descrita a continuación se aisló de una pityriasis versicolor, en su forma típica, en una señorita originaria de Xilitla, San Luis Potosí, paciente del Sr. Dr. Manuel Gea González, quien bondadosamente puso a nuestra disposición este caso por lo que le quedamos muy agradecidos. La enferma tenía 29 años y presentaba en la región pectoral manchas de 0.5 a 2 cms. de diámetro, redondeadas u ovaladas, aisladas o confluentes, de color moreno más o menos fuerte, de bordes netos, de aspecto grasoso y recubiertas de una finísima descamación furfurácea, más notable en los bordes de la lesión. Las escamas se levantaban fácilmente con el escalpelo y eran ligeramente amarillentas. No se observaron lesiones en ninguna otra parte del cuerpo. No tenía comezón ni otros signos funcionales. Las manchas le habían aparecido hace 6 meses, empezando en la región del esternón y extendiéndose hacia arriba sin llegar a invadir el cuello.

Las escamas utilizadas en este estudio fueron tomadas por el Dr. I. Ochoterena. Doy las gracias a mi estimado maestro por haberme facilitado este interesante material.

Descripción del organismo en las escamas.—El examen directo en las escamas demostró la presencia de un micelio abundante, compuesto de hifas cortas de 14 a 41 micras de largo (promedio 17.7 micras) y de 2.7 a 5.3 micras de ancho (promedio 3.4 micras). Los filamentos hifales poco ramificados o más frecuentemente sin ninguna ramificación eran sinuosos y muy a menudo se unían varios fragmentos para formar los filamentos más largos.

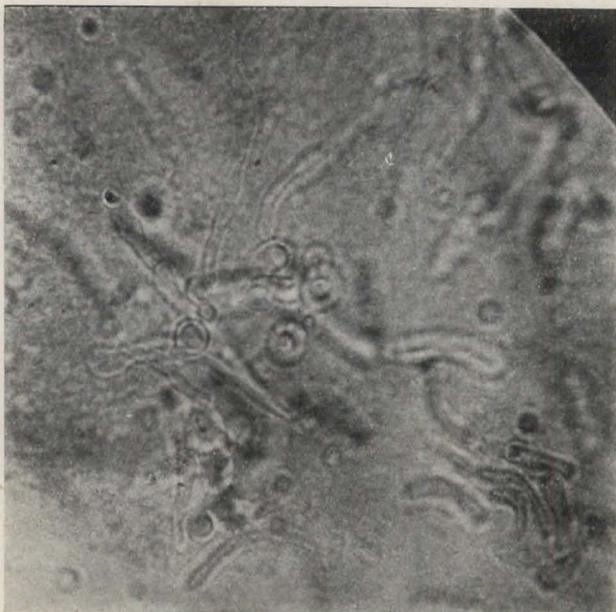


Fig. 1.—Filamentos y esporas de *Malassezia cchoterenai* en una escama fijada en alcohol absoluto y teñida con verde luz.

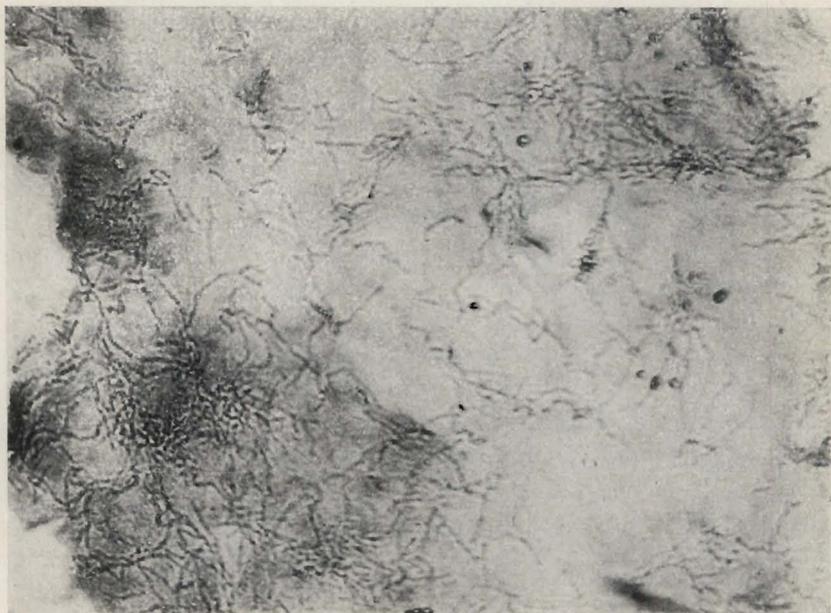


Fig. 2.—Filamentos hifales en una escama.

Observando las escamas tratadas con potasa, los filamentos largos y septados eran raros, se veían fragmentos pequeños, no septados o a lo sumo dos fragmentos unidos. Fijando la escama en alcohol absoluto y tiñéndola con verde luz se encontraron en cambio, filamentos largos compuestos de varias células formando extensas mallas.

Además de estos filamentos miceliales se encontraron "esporas" esféricas, ovoides o poligonales, aisladas o más frecuentemente unidas en paquetes de más o menos 20 elementos rodeados de filamentos hifales. Estas "esporas" o células levuriformes, poseían a veces una pequeña prolongación en forma de yema, sus paredes eran muy refringentes, muy netas y con frecuencia contenían un cuerpo globular en el centro. El diámetro de las esporas fué de 3 a 5.3 micras (promedio 1.99 micras). Se observaron filamentos que tenían en su base una espora, como si hubiesen germinado de ella. (Figs. 1, 2 y 3).

No hubo elementos parasitarios en los pelos.

La estructura de esta especie de *Malassezia* en las escamas es, por lo visto, muy semejante a la estructura de *Malassezia furfur* (Robin) Baillon 1889. El ancho de las hifas es un poco mayor, el diámetro de las esporas es ligeramente menor en *Malassezia ochoterenai*.

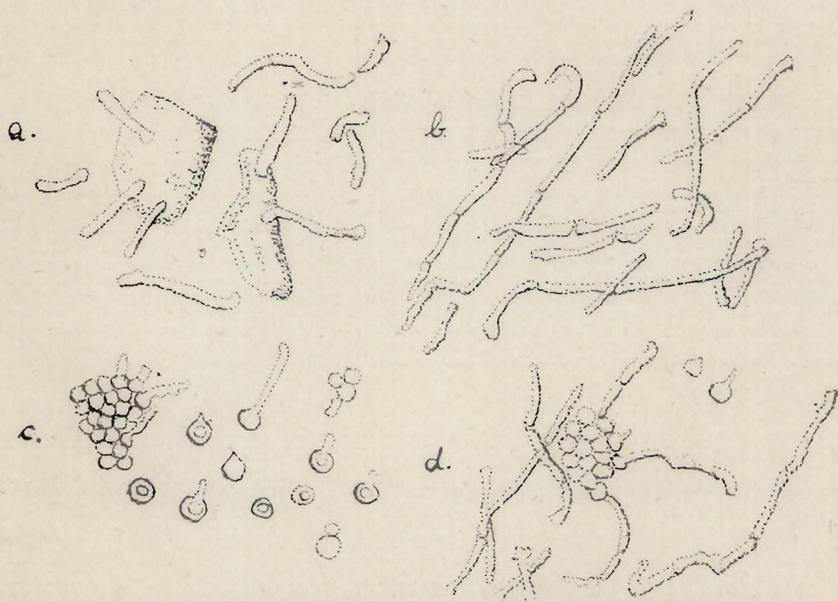


Fig. 3.—a, aspecto de los filamentos en una escama tratada con potasa; b, los mismos en una escama fijada en alcohol y teñida con verde luz; c, grupo de esporas y esporas aisladas; d, grupo de esporas rodeadas de filamentos largos.

Descripción del organismo en los medios artificiales.—Para el cultivo de la *Malassezia* a partir de las escamas, se sembraron fragmentos de escamas en unos 15 tubos, que contenían el medio de Sabouraud glucosado (pH. 5.5). Los tubos se mantuvieron a la temperatura del laboratorio (más o menos a 20° C.)

De esos 15 tubos, sólo 3 dieron cultivos de la dermatofita.

A los 10 ó 15 días se observó el desarrollo de un hongo de color moreno subido, abultado, aterciopelado sobre el desarrollo de bacterias (sarcina de color crema). Las colonias desarrolladas eran pequeñas, de 1 mm. de diámetro. Estas colonias se fueron transplantando en cortos intervalos a otros tubos con el fin de aislarlas a groso modo de las bacterias y lograr un mayor desarrollo. Al cabo de 15 días más, las colonias, todavía contaminadas, eran lo suficientemente grandes para poder rasparles la superficie y sembrar ese raspado libre de bacterias en otros tubos. Del cultivo desarrollado a partir del raspado, se hizo una dilución en medio de Sabouraud líquido y se sembraron con una sola asada de la dilución, 3 cajas de Petri con Sabouraud sólido. De la tercera estría se escogió más tarde una colonia aislada que se sembró en tubo. De esta manera se logró el completo aislamiento de la *Malassezia ochoterenci*.

Esta nueva especie, es entonces igual que las demás especies de *Malassezia* de cultivo inicial difícil. Una vez obtenido el cultivo, las resiembras siempre se logran fácilmente.

Caracteres culturales macroscópicos.—Para obtener uniformidad en los resultados, todas las observaciones se hicieron con cultivos desarrollados, a partir de una asada de emulsión de esporas en Sabouraud líquido, emulsión hecha a su vez con una asada de esporas de un cultivo joven. Todos los cultivos se mantuvieron a la temperatura del laboratorio. Los diversos medios de cultivo empleados, se prepararon siguiendo las técnicas indicadas por Dodge, Thom, Sabouraud y Henrici. El pH de los medios se determinó potenciométricamente. El color de las colonias se comparó con el "Code Universel des Couleurs pour E. Séguéy".

Estudio de los caracteres macroscópicos en medios sólidos gelosados:

1.—**Infusión de frijol gelosado (pH 6.0).** El desarrollo en este medio es abundante. Ya a los 3 días se observan colonias pequeñas, apenas visibles. Estas colonias crecen hasta alcanzar 2 mm. Al principio

las colonias están aisladas, pero a los 20 días casi la mayoría se han unido. Después de los 20 días el crecimiento va disminuyendo y a los 50 días más o menos cesa por completo.

La forma de la estría es al principio moniliforme y luego se vuelve equinulada casi en su totalidad.

La estría es elevada, sólo una pequeñísima franja del borde es plana, formada por micelio radiado.

La superficie es seca, opaca, aterciopelada, con circunvoluciones pequeñas causadas por la unión de las colonias aisladas.

El borde de la estría es ondulado. (Fig. 4 a).

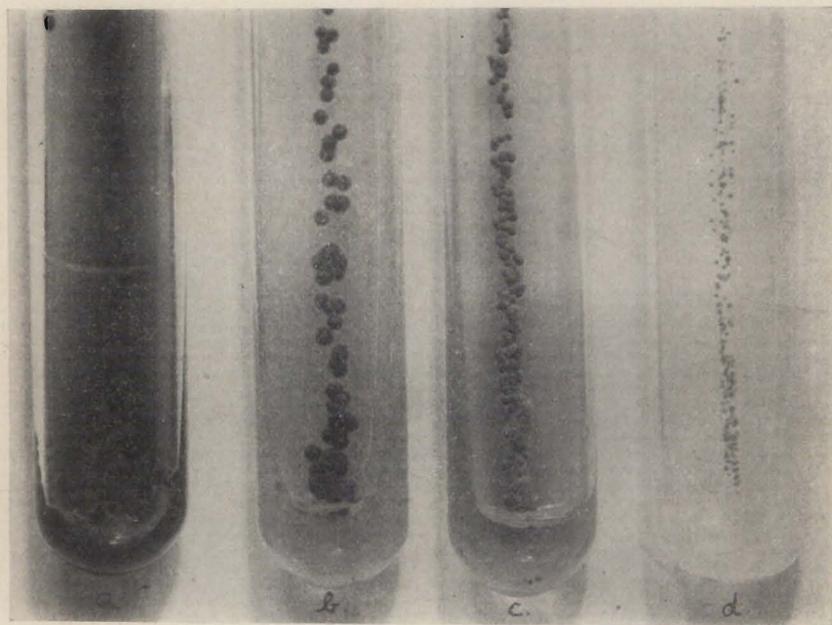


Fig. 4.—Aspecto de los cultivos en estría: a, en infusión de frijol gelosa; b, en Gorodkova; c, en Sabouraud maltosado; d, en agar Ulscheck.

El color es moreno claro a los 3 días, pero ya a los 7 días posee un color moreno-chocolate. El color va acentuándose poco a poco hasta tener a los 80 días un color que corresponde más o menos al número 701. El color moreno es muy característico pues lo encontramos con ligeras variaciones en todos los medios empleados, es el color que se produce en la piel, sólo que más acentuado. El revés de la estría es casi negro desde los 7 días. El pigmento se difunde en la infusión de frijol gelosa con mucha rapidez. Ya a los 7 días se observa

debajo de la estría, que el medio comienza a oscurecerse, a los 14 días todo el medio se ha oscurecido, acentuándose un poco más en los siguientes días. La infusión de frijol gelosa es el medio en que más fácilmente se difunde el pigmento.

Interesante es el hecho que a los 15 días empieza a irisarse la superficie del medio, siendo este fenómeno característico y exclusivo en el medio de infusión de frijol gelosa.

No se produce olor marcado, a los 50 días se nota un ligerísimo olor pútrido.

La **colonia gigante** es al principio circular, de bordes enteros, de elevación convexa. Más tarde, los bordes se vuelven ligeramente lobados, la forma convexa desaparece, y la colonia es más elevada en el centro, el cual es de aspecto cerebriforme o crateriforme. Desde el borde de la elevación central parten surcos radiales profundos y regulares. (Fig. 5). A los 25 días mide 10 mm. y a los 50 días 18 mm. de diámetro. Después de este tiempo ya no aumenta el tamaño de la colonia. El color es primero uniforme, luego aparecen manchas lige-

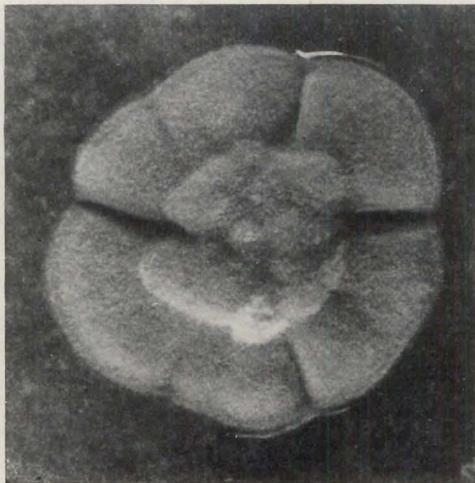


Fig. 5.—Colonia gigante de 30 días en infusión de frijol gelosa (pH 6.0).

ramente más claras. El aspecto es aterciopelado como hasta los 50 días, luego se vuelve un poco pulverulento. El revés de la colonia que es casi negro, presenta desde los 20 días grietas radiales que parten desde el centro de la colonia. La consistencia es como la del cartón, y puede romperse fácilmente mediante el asa de platino.

2.—**Gelosa glicerizada al 6% (pH 7.2).** Al principio, los caracteres de la estría en gelosa glicerizada son muy semejantes a los de la estría en el medio anterior: a los 3 días aparecen colonias punctiformes, que van creciendo más rápidamente que en infusión de frijol gelosa. Son también circulares, convexas y con una franja angosta de micelio radiado. Las colonias confluyen en este medio mucho más rápidamente. A los 20 días la estría es equinulada y más o menos el doble de ancho que la estría en el medio anterior.

La estría es elevada, pero posee una franja de micelio radial en el borde que tiene 1 mm. de ancho.

La superficie es seca, aterciopelada, con circunvoluciones grandes.

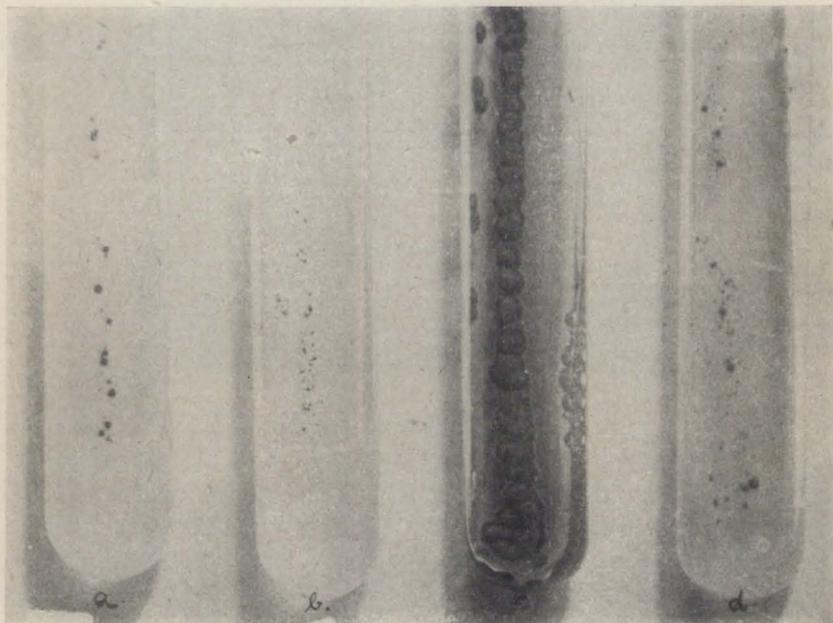


Fig. 6.—Cultivo en estría: a, en agar de Kauffman; b, en Czapeks; c, en gelosa glicerizada al 6% y d, en gelosa simple.

El borde es ondulado. (Fig 6 c).

El color es más claro y tirando al color de la canela. Es uniforme al principio, pero a los 30 días se mancha con zonas más claras. Puede decirse que el color es el de la tierra de siembra, y corresponde al número 176 de la tabla de Séguy.

El revés de la estría es casi negro, pero menos pronunciado que en el medio anterior.

En la gelosa-glicerina también se difunde el pigmento, pero con lentitud.

No se produce olor.

La **colonia gigante** solamente es durante los primeros días muy semejante a la colonia gigante en el medio anterior. A los 25 días los bordes son ondulados, la elevación convexa, y sólo existen ligeros surcos radiales en la zona estrecha del borde. (Fig. 7). La colonia gi-



Fig. 7.—Colonia gigante de 30 días en gelosa glicerinada al 6% (pH 7.2).

gante en gelosa glicerinada es más grande que en infusión de frijol gelosa. Mide a los 25 días 14 mm. y a los 80 días 22 mm. de diámetro. El color es más claro en el centro que en el borde de la colonia. Por el revés se observa también que la colonia se ha agrietado en el centro. La consistencia asimismo es como la del cartón.

3.—**Sabouraud maltosado (pH 5.5)**. El desarrollo no es muy abundante. Las colonias a lo largo de la estría son muy pequeñas, punctiformes, nunca llegan a tener más de 0.5 mm. de diámetro. Se unen pronto y forman una estría equinulada, vermiforme, angosta. Un dato característico es que al mes aproximadamente empieza a encogerse la estría, abultándose.

La estría es en su totalidad elevada, no se forma un borde plano de micelio radiado. (Fig. 4 a).

La superficie es aterciopelada, verrucosa.

El color es moreno tirando al gris y corresponde al número 132. Primero es uniforme, pero luego presenta manchas de tonos más claros.

El revés es casi negro y el pigmento no se difunde en el medio.

No se produce olor especial.

La **colonia gigante** es abultada, de bordes ondulados, de superficie ligeramente cerebriforme, de desarrollo lento. Mide a los 25 días 5 mm. de diámetro. (Fig. 8).



Fig. 8.—Colonia de 30 días en Sabouraud maltosado (pH 5.3).

4.—**Sabouraud glucosado (pH 5.0)**. Los caracteres de cultivo en este medio son análogos a los observados en Sabouraud maltosado.

5.—**Mosto gelosado (pH 5.3)**. El crecimiento es abundante, casi tan abundante como en gelosa glicerinada. Las colonias pequeñas de 1 mm. de diámetro, circulares, poco elevadas se unen pronto y forman una estría equinulada del ancho de la estría en gelosa glicerinada.

La estría es sólo ligerísimamente elevada en el centro; el aspecto general es de una estría plana.

El centro está formado de circunvoluciones pequeñas. El borde es plano y de 2 mm. de ancho, sus límites son ondulados. (Fig. 9 a).

Al principio el aspecto es aterciopelado pero pronto se vuelve pulverulento. A los 12 días se desprenden masas pequeñas, pulverulentas de esporas.

El color es como en Sabouraud maltosado, moreno ligeramente grisáceo.

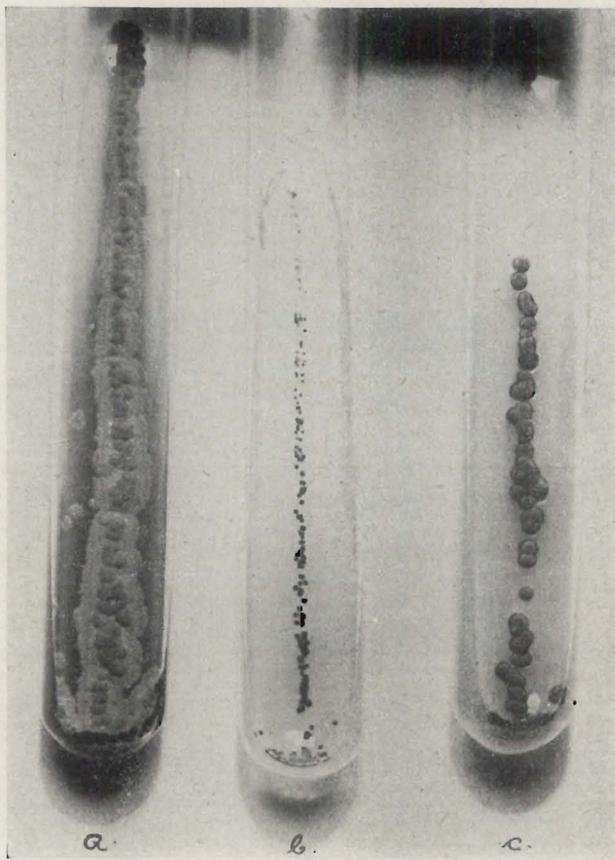


Fig. 9.—Cultivos en estría; a, en mosto gelosa; b, en infusión de patata gelosa; c, en infusión de patata gelosa y glucosada.

El revés es casi negro, el medio no cambia de color.

La **colonia gigante** es muy semejante a la colonia gigante en infusión de frijol gelosa. Es circular, los bordes ligeramente lobados, el centro elevado, crateriforme o cerebriforme, con surcos radiales profundos y regulares en el borde de la colonia. El color es uniforme. El diámetro es a los 25 días de 12 mm. (Fig. 10). Las colonias no demuestran nunca crecimiento arborescente (*arbor vitae*), dato característico en el crecimiento de la colonia gigante de *Malassezia furfur*.

6.—**Infusión de patata gelosada (pH 5.5).** El desarrollo es pobre. Las colonias pequeñísimas, punctiformes no llegan a alcanzar más de 0.3 mm. No confluyen fácilmente. La estría permanece moniliforme. La elevación de la estría es mínima.

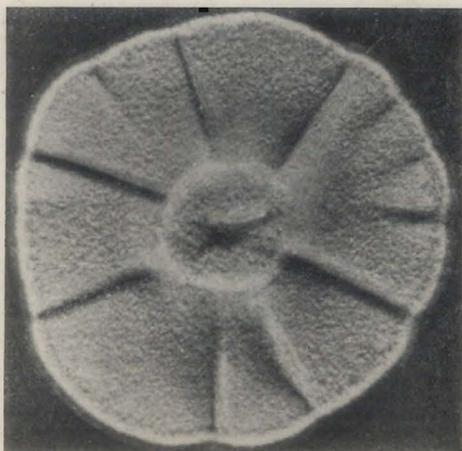


Fig. 10.—Aspecto de una colonia gigante de 30 días en mosto gelosado (pH 5.3).



Las colonias circulares son morenas grisáceas (Fig. 9 a).

El revés es moreno subido, el color no se difunde en el medio.

La **colonia gigante** de forma irregular, con los bordes lobados, es plana y su superficie es ligeramente rugosa, de aspecto veloso. Mide a los 25 días 6 mm. de diámetro. (Fig. 11).

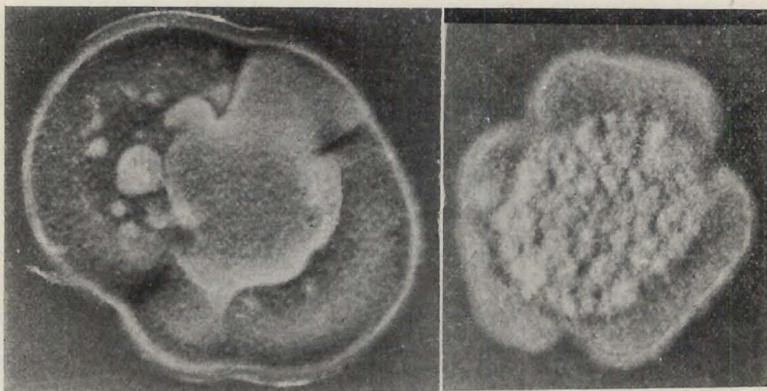
7.—**Infusión de patata gelosada y glucosada (pH 5.5).** El desarrollo mejora mucho con la adición de glucosa en la infusión de patata. Las colonias circulares, abultadas, se unen pronto para formar una estría equinulada en parte y en parte formada de colonias aisladas de 2 mm. de diámetro.

El color es el mismo que en la infusión de patata simple sólo que más subido. (Fig. 9 a).

El pigmento se difunde en el medio a los 20 días.

La **colonia gigante** tiene sus bordes ligeramente ondulados, es elevada, un poco cerebriiforme en su superficie, aterciopelada y en ge-

neral de aspecto muy semejante al que tiene la colonia gigante en Sabouraud maltosado. (Fig. 12). A los 25 días tiene un diámetro de 8 mm.



Figs. 11.—Colonia de 30 días en infusión de patata gelosa (pH 5.5). 12.—Colonia gigante de 30 días en infusión de patata gelosada y glucosada (pH 5.5).

8.—**Agar de Ullscheck (pH 5.3).** El crecimiento es escaso, un poco menor que en infusión de patata simple gelosada. El aspecto es casi igual al que presenta en el medio citado. (Fig. 4 d). El color es un poco rojizo, como el de la canela. El revés es casi blanco. El pigmento no se difunde en el medio. No se produce olor.

La **colonia gigante** es muy distinta a las colonias descritas en los medios anteriores. Es miceloide, de bordes lobados, completamente plana. El centro es más compacto y ligeramente verrucoso. Todo el resto de la colonia es transparente, formada de hifas radiales. Existen ligeras zonas tanto radiales como circulares. (Fig. 13). El color es el de la canela, el aspecto es primero aterciopelado luego granuloso. El revés es casi negro en el centro y moreno claro hacia el borde, a los 80 días mide 25 mm. en su diámetro mayor.

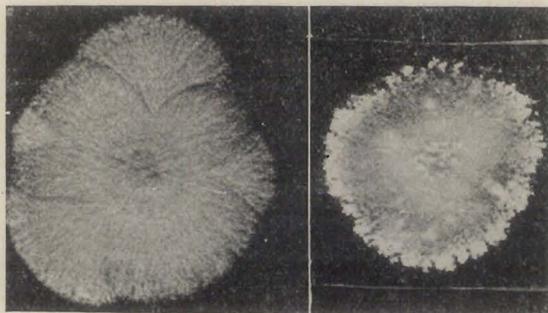
9.—**Agar de Czapek (pH 5.2).** El desarrollo es escaso. Las colonias a lo largo de la estría son aún más pequeñas que las que se desarrollan en el Agar de Ullscheck (Fig. 6 b). El color es moreno grisáceo. El pigmento no se difunde en el medio.

La **colonia gigante** es parecida a la colonia miceloide en Agar de Ullscheck, sólo que más compacta. Su diámetro a los 50 días es de 11 mm.

10.—**Agar de Kauffman (pH 4.8).** La estría moniliforme está formada por colonias de 1 mm. de diámetro casi negras. En este medio las colonias adquieren la máxima intensidad en su color. El pigmento no se difunde en el medio. (Fig. 6 c).

La **colonia gigante** es de bordes lobulados, plana, ligeramente corrugada y mide a los 50 días 6 mm. de diámetro.

11.—**Gelosa simple (pH 7.2).** La gelosa nutritiva es el medio geloso menos favorable para el desarrollo de la *Malassezia ochoterenai*. Las colonias punctiformes, son planas, de borde irregular, opacas, y de color moreno claro. Es el medio en que se adquiere la menor intensidad de color. (Fig. 6 d).



Figs. 13.—Colonia gigante de 80 días en agar de Ullscheck (pH 5.3). 14.—Aspecto de una colonia de 80 días en gelosa nutritiva (pH 7.2).

La **colonia gigante** es plana, semitransparente. El centro es ligeramente más oscuro y provisto de pequeñas elevaciones punctiformes. Los bordes son auriculados y el diámetro a los 80 días es de 16 mm. (Fig. 14).

De los medios gelosados los más apropiados para el desarrollo de la *Malassezia ochoterenai* son la gelosa glicerizada al 6% y el mosto geloso.

Las colonias en todos los medios gelosados son morenas, variando del tono gris al rojizo, siendo el color más acentuado en la gelosa de Kauffman. Son en su mayoría cerebriiformes y compactas, excepto en la gelosa de Ullscheck, de Czapek y en la gelosa simple. Son de la consistencia del cartón, mucoides, no filamentosas, siempre opacas, nunca brillantes.

Estudio de los caracteres macroscópicos en los medios sólidos gelatinizados.

12.—**Solución de Raulin gelatina (pH 5.7).** El desarrollo es muy abundante. Ya a las 48 hs. se observan a lo largo de la estría colonias punctiformes. A los 6 días la estría comienza a ser equinulada. A los 20 días la estría tiene 6 mm. de ancho.

La estría es muy elevada, abultada. A los 20 días aproximadamente aparece una franja de micelio radiado plano en el borde, que no es constante, pues en muchos tubos no se forma.

La superficie es aterciopelada, cerebriiforme. A los 25 días aparecen sobre ella pequeñas y numerosas gotas de condensación incoloras. Estas gotas de condensación tampoco aparecen con constancia.

El borde de la estría es ondulado (Fig. 15 a y b).

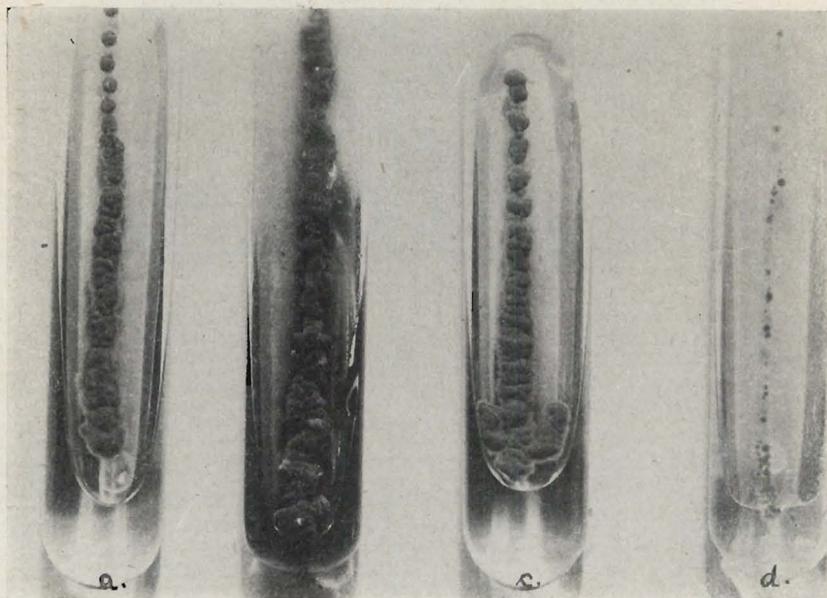


Fig. 15.—Cultivos en estría desarrollados en: a, Raulin gelatina, a los 20 días; b, en el mismo medio a los 80 días; c, Hayduk gelatina, y d, gelatina simple.

El color es moreno grisáceo, como el color de la estría en Sabouraud maltosado. El revés es negro. A los 8 días el pigmento empieza a difundirse por debajo de la estría. A los 50 días, todo el medio ha cambiado su color, aunque todavía se ve más fuertemente coloreado por debajo de la estría.

Sembrando en **picadura**, se observan a los 3 días pequeñas colonias blanquizas a lo largo de la picadura y en la superficie un desarrollo de más o menos 1 mm. de diámetro. A los 10 días el crecimiento profundo, es veloso, no muy abundante. En los días sucesivos ya no se modifica el crecimiento en la picadura. La superficie se cubre completamente con un desarrollo cerebriforme muy abultado que se encoge y rompe la gelatina (Fig. 16 a y b).

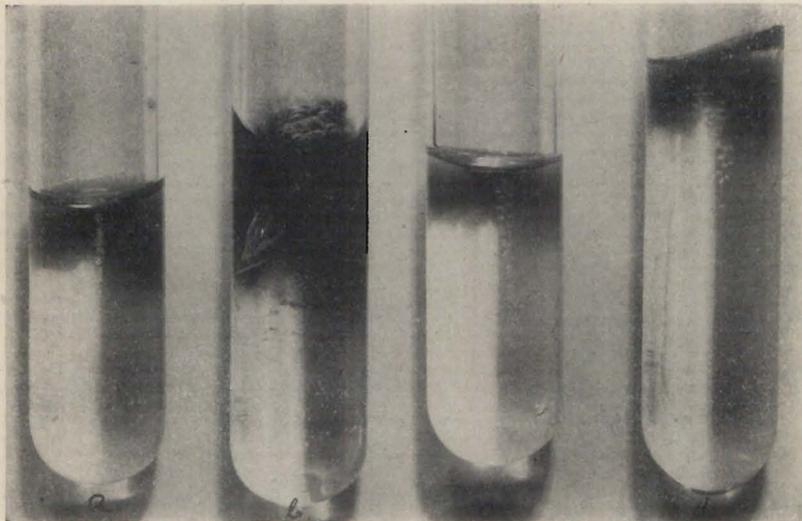


Fig. 16.—Aspecto de los cultivos en picadura: a, en Raulin gelatina, a los 20 días; b, en el mismo medio a los 80 días; c, Hayduk gelatina; d, gelatina simple.

No hay licuefacción de la gelatina.

La **colonia gigante** es de forma irregular, fuertemente cerebriforme, elevada, de aspecto aterciopelado. Mide a los 25 días 9 mm. y a los 80, 22 mm. en su diámetro mayor. (Fig. 17). El color es primero uniforme, luego adquiere manchas más claras. La consistencia es como la del cartón.

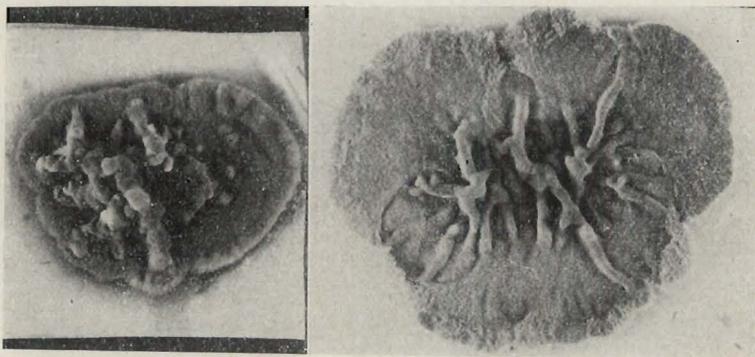
13.—**Solución de Hayduk gelatina (pH 6.7)**. Al principio el desarrollo de la estría es muy semejante al de la estría en el medio anterior. Ya a los 14 días aparece sin embargo un borde plano de micelio radiado, constante. Es en realidad lo que distingue la estría en Hayduk gelatina y en Raulin gelatina. La estría es elevada, cerebriforme y no parece encogida (Fig. 15 a). El color es moreno ligeramente ca-

nela, el revés es negro y el pigmento se difunde con mayor rapidez y en mayor cantidad que en el medio anterior. La aparición de gotas de condensación incoloras y pequeñas no es constante.

También los caracteres del cultivo en picadura se semejan a los de Raulin gelatina. (Fig. 16 c).

No licua la gelatina.

La **colonia gigante** es irregular, cerebriforme, muy elevada al principio, de bordes lobados y más grandes que la colonia en Raulin gelatina. Mide a los 25 días, 15 mm. y a los 80, 45 mm. en su diámetro mayor. (Fig. 18).



Figs. 17.—Colonia gigante de 80 días en solución de Raulin gelatina (pH 5.7).
18.—Aspecto de una colonia de 80 días desarrollada sobre solución de Hayduk gelatina (pH 6.7).

14.—**Mosto gelatina (pH 5.6)**. El mosto gelatina es muy favorable para el desarrollo de la *Malassezia*. La estría pronto es equinulada, de bordes lobados, plana, cerebriforme de color moreno un poco más grisáceo que el de la estría en Raulin gelatina. El pigmento se difunde lentamente en el medio. (Fig. 19 a).

Los caracteres de la picadura no difieren de los caracteres anteriormente citados.

La **colonia gigante** es muy semejante a la colonia gigante en Hayduk gelatina; es elevada, de bordes lobados, con surcos radiales profundos que más tarde dan el aspecto cerebriforme a la colonia. Mide a los 25 días 14 mm. de diámetro (Fig. 20). El color moreno grisáceo del borde es más claro que el resto de la colonia.

15.—**Infusión de patata gelatina (pH 6.0)**. Es interesante este medio porque es el único en el que el desarrollo es ligeramente brillante y húmedo. El desarrollo es escaso. Las colonias punctiformes, pla-

nas, confluyen pronto y forman una estría equinulada de borde transparente formado de micelio radiado (Fig. 19 b). El color es negro grisáceo tirando al verde. El revés es gris verdoso. El pigmento no se difunde en el medio.

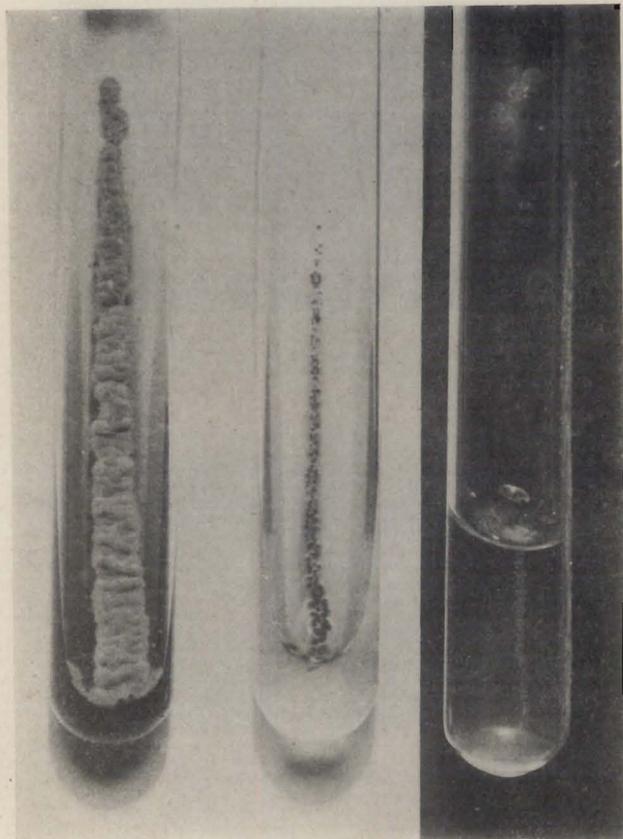


Fig. 19.—a y b, Cultivos en estría: en mosto gelatina y en infusión de patata gelatina; c, cultivo en picadura en infusión de patata gelatina.

El crecimiento **en picadura** es veloso y más profundo que en los medios anteriores. No hay licuefacción. (Fig. 19 c).

La **colonia gigante** es irregular, de bordes lobados, plana, compacta y con elevaciones punctiformes en el centro. El borde es transparente formado de micelio radiado, más claro que el resto de la colonia y ligeramente verdoso. A los 25 días mide 6 mm. (Fig. 21).

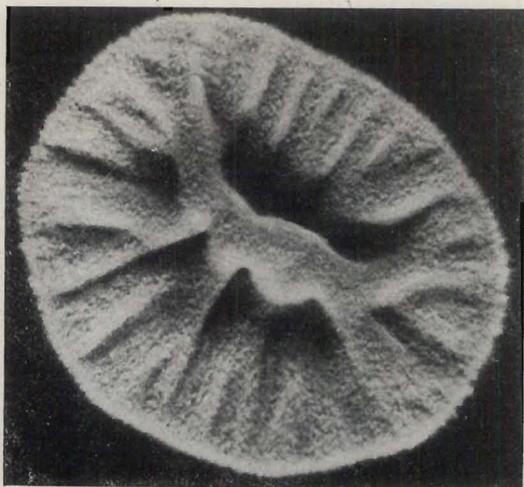


Fig. 20.—Colonia gigante en mosto gelatina (pH 5.6).

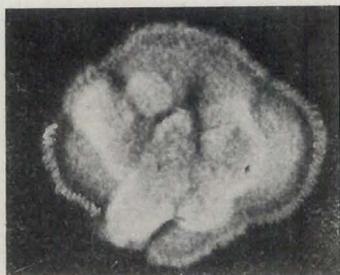


Fig. 21.—Colonia gigante en infusión de patata gelatina (pH 6.0).

16.—**Gelatina simple (pH 7.2).** El crecimiento es aún más escaso que en la infusión de patata gelatina. Las colonias no confluyen, sino que la estría permanece siempre moniliforme. Las colonias son planas, circulares y unas alcanzan más de 1 mm. de diámetro. El color es al principio moreno claro luego se vuelve más pronunciado y tiende al canela claro. El revés también es moreno claro y el pigmento no se difunde en el medio. (Fig. 15 d).

La picadura es arborescente, no muy profunda. (Fig. 16 a).

La **colonia gigante** es circular, parecida a la colonia gigante en gelosa simple, sólo que un poco menos transparente. Mide a los 50 días 9 mm. de diámetro.

De los medios gelatinizados, entonces, el Raulin gelatina, el Hayduk gelatina, y el Mosto gelatina, son los más favorables para el desarrollo de *M. ochoterenai*.

Las colonias en estos tres medios son muy semejantes, cerebriformes y aterciopeladas. En Patata gelatina se observa ligero brillo. No se licua la gelatina nunca. La consistencia es siempre parecida a la del cartón.

Caracteres macroscópicos en los medios líquidos:

17.—**Mosto simple (pH 6.5).** El desarrollo es muy abundante. Ya a las 48 hs. aparecen sobre el borde de la superficie del mosto, colonias pequeñas, de color moreno muy claro. Estas colonias aumentan pronto en número y tamaño, cubriendo toda la superficie del líquido. Confluyen primero en el centro, luego (a los 15 días) existe una película membranosa, gruesa, ligeramente corrugada. A los 20 días el crecimiento superficial es tan abundante, que el aspecto de la membrana es cerebriforme (Fig. 22 a).

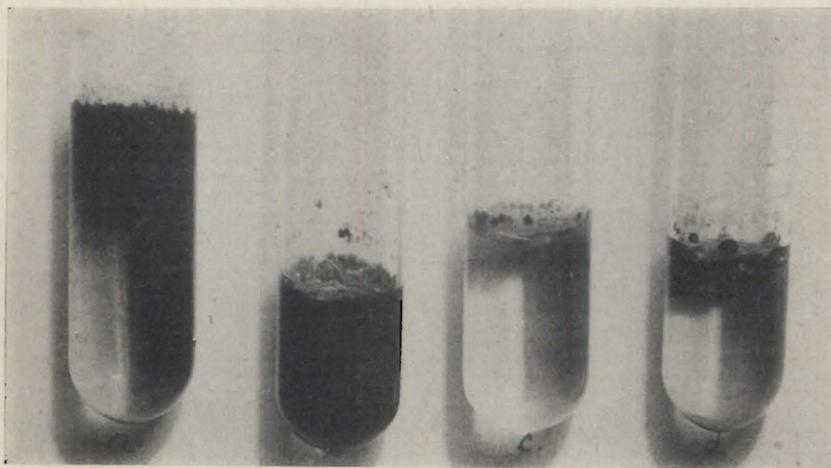


Fig. 22.—Desarrollo en medios líquidos: a, en mosto simple; b, en caldo maltosado; c, en caldo lactosado y d, en Sabouraud líquido.

El color es moreno chocolate, el aspecto aterciopelado. El revés es casi negro y el pigmento se difunde en el medio. A los 11 días se nota en la superficie del mosto, inmediatamente debajo del desarrollo superficial, una franja oscura. A los 40 días, todo el medio se ha oscurecido uniformemente.

Sólo se forma ligero sedimento que aparece a los 6 días y que es de 3 mm. de espesor a los 40 días. Es floculento y ligeramente moreno.

De los medios líquidos usados, el mosto simple es el más favorable para el crecimiento de este hongo.

18.—**Sabouraud maltosado líquido (pH 5.2).** El crecimiento es abundante. Pronto la superficie del líquido se cubre de colonias circulares, abultadas, que se unen en islotes de forma irregular. Nunca se llega a cubrir completamente la superficie. El color es moreno, ligeramente grisáceo. El revés es moreno oscuro. El pigmento no se difunde en el medio.

El sedimento es floculento, moreno grisáceo y de 3 mm. de espesor a los 30 días. (Fig. 22 a).

19.—**Infusión de frijol (pH 6.0).** El crecimiento es tan abundante como en Sabouraud maltosado. Se forman también colonias abultadas, circulares, un poco más pequeñas que en el medio anterior. Se unen en islotes irregulares y nunca forman una membrana compacta. (Fig. 23 a). El color es más grisáceo que en Sabouraud maltosado. El revés es negro. El pigmento se difunde con mucha rapidez. Ya a los 10

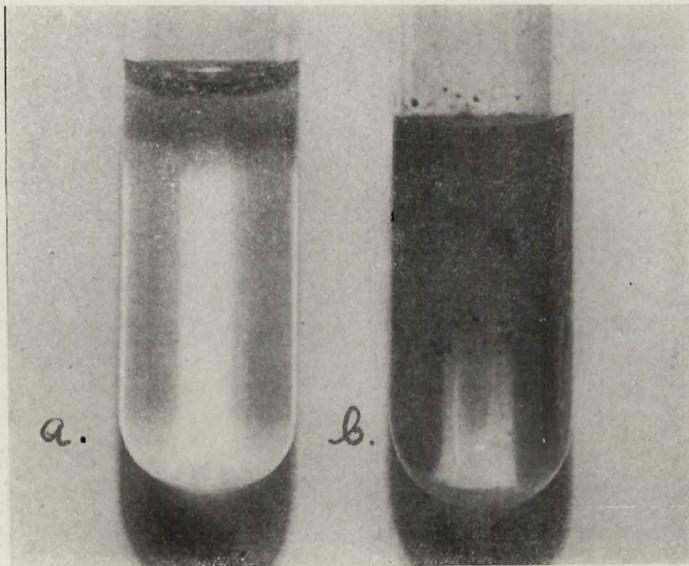


Fig. 23.—Desarrollo en medios líquidos: a, en infusión de patata y b, en infusión de frijol.

días se nota una franja negra en la superficie del medio, que va haciéndose más y más grande hasta llegar al fondo. El sedimento es poquísimo, formado por colonias blancas muy pequeñas.

20.—**Infusión de patata (pH 6.0).** El desarrollo es muy escaso. La superficie se cubre de colonias punctiformes de 0.5 mm. de diámetro que confluyen un poco. El color es como el que presenta en infusión de frijol. El revés es moreno claro. El pigmento no se difunde en el medio. (Fig. 23 b).

El sedimento es floculento, blanco y a los 15 días de 3 mm.

21.—**Líquido de Hayduk (pH 6.0).** A los 6 días la superficie del líquido se cubre completamente de colonias pequeñas (0.5 mm.) Pronto se unen en islotes y más tarde se cubre toda la superficie con una membrana verrucosa. Es aterciopelada al principio, luego ligeramente pulverulenta. El color es moreno canela. El revés es negro, el pigmento no se difunde en el medio. (Fig. 24 b).

22.—**Líquido de Raulin (pH 4.8).** El desarrollo es casi idéntico al desarrollo en Hayduk. El revés es más claro en los bordes de las colonias pequeñas. El color de la superficie es primero uniforme pero luego adquiere manchas casi blancas. Se forman gotas de condensación, no muy pequeñas, incoloras e inconstantes. (Fig. 24 a). No se difunde el pigmento.

El sedimento floculento, moreno, es más escaso que en el medio anterior.

23.—**Caldo nutritivo (pH 7.4).** Este líquido es muy poco favorable para el desarrollo. Las colonias pequeñísimas aparecen tardíamente y se desarrollan con mucha lentitud. Son casi blancas al principio luego se van oscureciendo sin llegar a adquirir un color pronunciado. La película siempre es floculenta. El color del revés es ligeramente moreno. (Fig. 24 c). El pigmento no se difunde en el medio.

El sedimento es escaso, floculento, formado de pequeñas colonias de color blanco.

24.—**Caldo maltosado al 2% (pH 7).** La maltosa en el caldo mejora mucho las condiciones de desarrollo. Los caracteres culturales en este medio son muy semejantes a los observados en el mosto, sólo que el desarrollo es menor y por lo tanto la membrana es menos corrugada. El color es primero uniforme como el del desarrollo en mosto, más tarde aparecen manchas más claras. (Fig. 22 b).

El color del revés es moreno un poco menos pronunciado que el que demuestra en mosto. El pigmento se difunde en el medio hasta proporcionarle a éste el color del mosto.

25.—**Caldo lactosado al 2% (pH 7).** El desarrollo es menor que en caldo maltosado. Las colonias no llegan a confluír nunca por completo. El desarrollo superficial es entonces floculento. El revés es moreno claro, el pigmento no se difunde en el medio. El sedimento es escaso, floculento y de color crema. (Fig. 22 c).

26.—**Água peptonada de Dunham (pH 7).** El desarrollo es análogo al desarrollo en caldo nutritivo sólo que todavía más escaso. Adicionado de diversos azúcares se observa que el desarrollo aumenta notablemente, exceptuando el almidón soluble y la dextrina, que no sólo no favorecen sino que dificultan el desarrollo.

Los monosacáridos favorecen más el desarrollo que los di y polisacáridos. La adición de glucosa, levulosa y manosa produce un desarrollo semejante al producido en Sabouraud líquido. La arabinosa produce colonias planas y grandes.

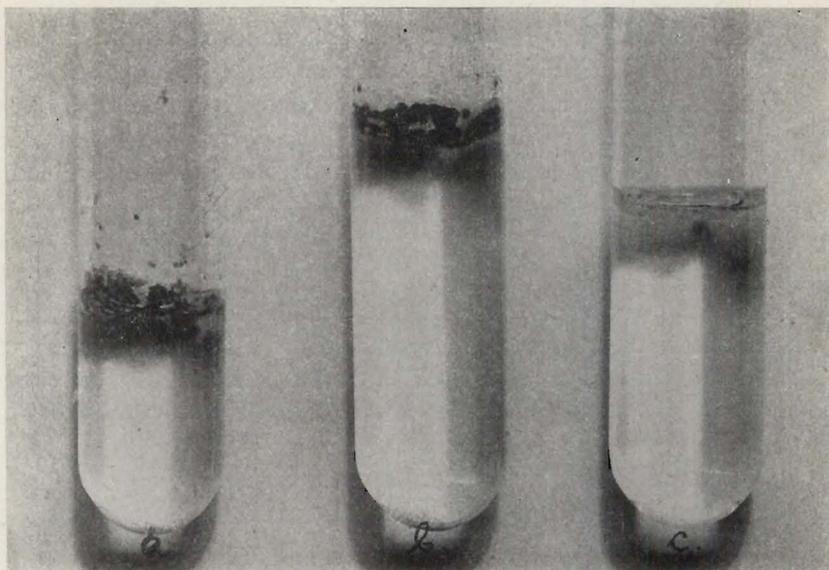


Fig. 24.—Aspecto de los cultivos en medios líquidos: a, en Raulin simple; b, en líquido de Hayduk; c, en caldo nutritivo.

El color de las colonias es más claro en los medios adicionados de arabinosa, cellobiosa, lactosa e inulina. En los medios adicionados de glucosa, xilosa, levulosa, galactosa, manosa, sacarosa y maltosa, el color es moreno grisáceo como el de las colonias en Sabouraud maltosado. El revés es moreno no muy pronunciado. El pigmento no

se difunde en ninguno de los medios adicionados de los azúcares mencionados.

El sedimento es escaso, flocculento y blanco.

Caracteres culturales microscópicos. Los caracteres microscópicos se observaron tanto en microcultivos como en preparaciones hechas a partir de los cultivos en tubos.

Los microcultivos se hicieron conforme a la técnica de Van Tjegg-ham, usando también medios sólidos. Se mantuvieron en cámara húmeda, a temperatura del laboratorio, pudiéndose observar bien durante un mes.

Las preparaciones a partir de los cultivos en tubos, se hicieron tomando un fragmento de las colonias y dissociándolas en suero fisiológico estéril, para observar las estructuras lo menos deterioradas posible. Se hicieron coloraciones siguiendo la técnica de Kufferath con el fin de poder determinar la presencia de ascas y ascosporas.

Descripción microscópica del organismo en los medios sólidos.

En los microcultivos hechos con diversos medios de cultivo se observan pocas diferencias estructurales entre unos y otros medios.

A las 24 horas germinan las esporas, se hinchan primero y luego emiten uno o más, frecuentemente dos tubos de germinación. La

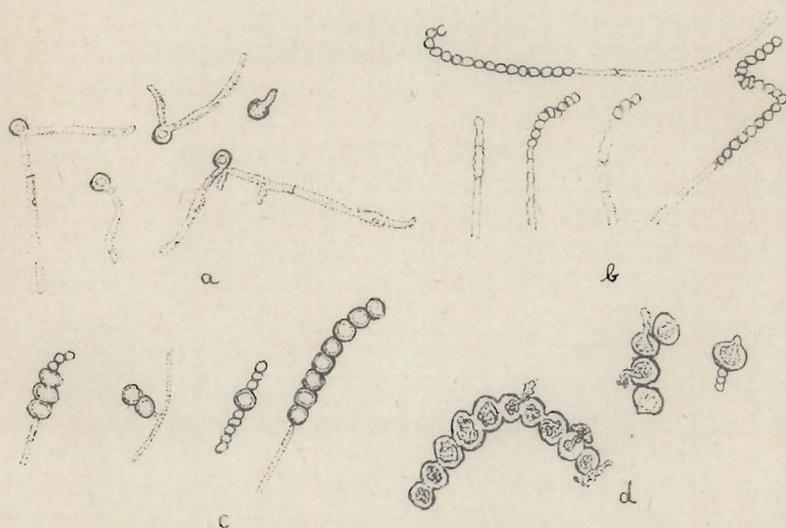


Fig. 25.—Aspecto de las estructuras en un microcultivo con Sabouraud maltosado (pH 5.2); a, esporas germinando; b, oidios; c, clamid esporas; d, estas mismas con su protoplasma encogido o evacuado, observadas a mayor aumento que las anteriores.

espora que ha germinado, tiene una vacuola central y una pared bien distinta. Los tubos de germinación ya tienen septas y algunas hifas laterales. Tienen en algunos medios más longitud y en otros menos, desde 33 a 62 micras. (Fig. 25 a).

A las 48 horas aproximadamente, se forman cadenas cortas y largas, más o menos sinuosas, de esporas esféricas, ovaladas o poliédricas. Respecto a la formación de estas esporas, se observa que la parte inferior de la hifa es aseptada, más arriba se ven estrangulaciones ligeras, y por último encontramos en la parte terminal esporas bien formadas. (Fig. 25 b). Las esporas se forman entonces por estrangulación de la hifa, proceso que hace pensar que se trata de oidios. Estos oidios miden en su diámetro mayor de 1.7 a 4.2 micras (promedio 2.8 micras); su pared es refringente y su contenido hialino.

A los 7 días más o menos, se forman en algunos medios clamidosporas terminales o intercalares, aisladas o más frecuentemente unidas en cadenas de 5 a 10 elementos. Poseen una pared muy refringente, gruesa y un contenido granuloso. Miden de 4.5 a 6.2 micras (promedio 5.4 micras). (Fig. 25 c).

En Sabouraud maltosado se pudo observar, que a los 20 días el contenido de esas clamidosporas se encoge; la membrana se corruga y algunas expulsan su contenido. (Fig. 25 d).

Las hifas vegetativas tienen el grosor aproximadamente de los oidios y algunas son más granulosas que otras.

Los caracteres microscópicos en las preparaciones hechas a partir de cultivos en tubo, presentan en los diversos medios de cultivo algunas diferencias.

En Sabouraud maltosado (pH 5.2) se observan los mismos elementos que se encuentran en los microcultivos: oidios esféricos de pared refringente y lisa, de contenido hialino, aislados o unidos en cadenas largas (Fig. 26 a); esporas más grandes, de paredes oscuras y gruesas algunas veces irregulares, y de protoplasma algo encogido (Fig. 26 b).

Además se desarrollan en cultivos más viejos, abundantes elementos globulosos de 6.1 a 9.5 micras (promedio 7.4 micras), que poseen una cápsula muy peculiar. La cápsula es muy gruesa, refringente y formada por lo regular de dos partes, una más pequeña y sobrepuesta a la otra más grande (Fig. 26 c). Algunos de estos elementos, sólo poseen la cápsula pequeña, otros la grande. Parece que esta cápsula se abre y deja en libertad a células esféricas de contenido granuloso y de membrana delgada. El contenido de estas células, no se tiñe nunca con la fucsina, empleando el método de Kufferath. Estas célu-

las levuriformes de doble membrana, se semejan a las células esféricas descritas por M. Moore en *Hemispora coreniformis*, sólo que la cápsula no es gelatinosa.

Se observan esporas de formación endógena, encerradas, comúnmente 4 de ellas, en una membrana oscura y gruesa. Los elementos endógenos son esféricos o ligeramente cuadrangulares, con un corpúsculo central muy refringente. Estas cadenas de 4 esporas, miden de 13.3 a 8.6 micras (promedio 10.1 micras) de largo, por 1.9 a 3.6 micras (promedio 2.9 micras) de ancho. Las esporas aisladas miden aproximadamente 3 micras en su diámetro mayor. Existen pocas cadenas de 2 elementos y otras aún más raras de 10 elementos. La membrana externa gruesa, se rompe y deja salir esporas de paredes delgadas y lisas. La membrana externa es más gruesa a los lados de la espora que junto al espacio entre dos esporas, rompiéndose precisamente en esos lugares más delgados. Respecto a su formación, se observan, todavía sostenidas a una hifa, hileras de 2 a 4 esporas encerradas en su cápsula común (Fig. 26 a), sin presentar estrangulación en la hifa, sino que la separación es solamente por un tabique.

Por el aspecto, número y modo de formación parece que se trata de ascas y ascosporas. Sin embargo, el método de Kufferath no tiñe siempre los elementos en rojo.

Observando muchas preparaciones, pueden encontrarse escasas formaciones muy semejantes a closterosporas de dos lóculos, que miden 14.4×6 micras (Fig. 26 f).



Fig. 26.—Aspecto microscópico de las estructuras encontradas en un pedazo de colonia de 50 días crecidas en Sabouraud maltosado.

Las hifas vegetativas son granuladas, de paredes gruesas y oscuras. A veces presentan ensanchamientos terminales o intercalares con vacuolas y abundantes granulaciones. Estos ensanchamientos cuando son intercalares tienen forma generalmente irregular, pero cuando son terminales, su forma es ovalada y con un pequeño umbo terminal (Fig. 26 e).

En infusión de frijol gelosa, se observan pocos elementos globulosos de doble membrana, tan abundantes en Sabouraud maltosado.

Existen muchas cadenas de esporas endógenas, la mayoría de 4 elementos.

Interesantes son unas formaciones muy semejantes a las hemisporas típicas de *Hemispora stellata*: hifas con una constricción poco antes de su extremidad, después de la cual la pared es gruesa, oscura y de superficie ligeramente rugosa. En el ápice de esta terminación hifal, se forman esporas esféricas, ovaladas o ligeramente poliédricas. Las esporas se forman empezando en el ápice y siguiendo hacia abajo. Se separan de una en una o de dos en dos formando una pared transversal. (Fig. 27 a). Estas terminaciones hifales miden de 7.6 a 15.2 micras (promedio 8.8 micras) de largo, por 3.1 a 3.6 micras (promedio 2.7 micras) de ancho. Las esporas endógenas miden promedialmente 3 micras.

Estas hemisporas no parecen tener relación con las esporas endógenas anteriormente citadas, pues pueden existir las primeras sin existir las segundas. Además se observan en este medio igual que en el anterior, grupos de endosporas todavía sostenidas a las hifas sin constricción alguna en esas hifas fértiles.

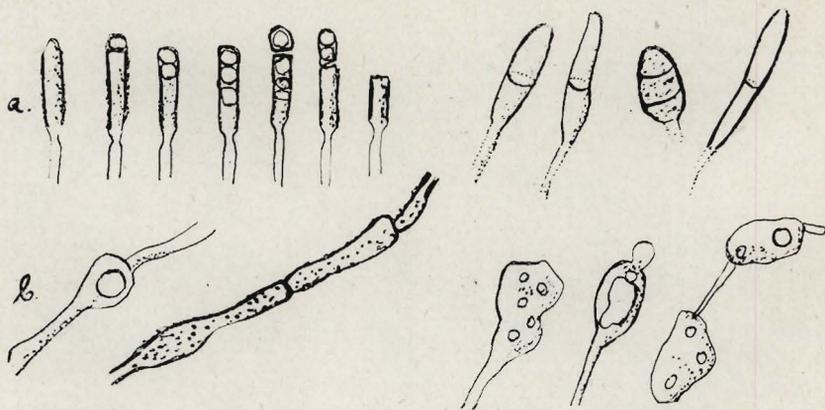


Fig. 27.—Hemisporas e hifas vegetativas observadas en cultivos desarrollados sobre infusión de frijol gelosa.—Closterosporas observadas en gelosa glicerinada al 6% (pH 7.2).—Hifas con ensanchamientos observadas en solución de Ulschek gelosado.

Las esporas endógenas primeramente citadas, son muy semejantes a las hemisporas de *Hemispora coremiformis* Moore, las otras esporas endógenas son semejantes a las hemisporas de *Hemispora stellata*, sólo que no forman cadenas largas de esporas.

Las hifas vegetativas son de grosor irregular, presentan de vez en cuando ensanchamientos con grandes vacuolas. La mayoría posee una membrana gruesa, muy oscura con abundantísimos gránulos oscuros. Las hifas vegetativas, son de un color moreno más pronunciado que las hifas en Sabouraud maltosado (Fig. 27 b).

Los oidios en este medio son muy abundantes, se observan en cadenas largas iguales a las observadas en los microcultivos, mostrando a veces clamidosporas intercalares. En el medio anterior es raro observar oidios o clamidosporas en cadenas.

En gelosa glicerinada al 6%, se observan abundantes oidios, algunas closterosporas de 2 y 3 lóculos (Fig. 27). Las closterosporas de 2 lóculos son delgadas y largas y miden 17 por 3.6 micras. Las de 3 lóculos, son cortas de paredes más gruesas, pigmentadas y miden 9.5 por 5.7 micras.

Las esporas de formación endógena, son algunas lo doble de grueso que las observadas en Sabouraud maltosado.

Se observan muy pocos elementos levuriformes de membrana doble. Son grandes y hialinos y algunos han germinado. Otros elementos levuriformes tienen forma ovalada y poseen una pared gruesa y uniforme.

Existen hemisporas no tan abundantes como en el medio anterior. Las hifas vegetativas son de grosor muy irregular, con paredes pigmentadas, gruesas y su contenido muy granuloso.

En la gelosa de Ullscheck, que es poco favorable para el desarrollo de *M. ochoterenai*, se observan solamente oidios formando cadenas muy largas, algunos de ellos de forma ovalada. Las hifas vegetativas, tienen paredes incoloras con abundantes glóbulos en su protoplasma. Se observan en ellas secciones ensanchadas intercalares o finales con abundantes vacuolas y granulaciones. (Fig. 27).

En gelosa simple se observan cadenas de oidios esféricos, clamidosporas intercalares en cadenas de 5 a 10 elementos. Los elementos de formación endógena, son del tipo de las hemisporas de *Hemispora stellata*. Las hifas vegetativas son semejantes a las que se encuentran en el medio de Ullscheck.

Los caracteres microscópicos en Raulin gelatina, se semejan a los que se observan en Sabouraud. Algunos oidios son grandes y ovalados. Muchas de las formaciones globulosas con membrana do-

ble germinan. Además se encuentran cadenas de esporas cuadrangulares muy delgadas, de 1.9 micras de ancho.

Las estructuras que se observan en Hayduk gelatina, son análogas a las que se observan en el medio anterior.

En gelatina simple sólo se observan cadenas de oidios. Las hifas vegetativas demuestran abundantísimos ensanchamientos globulosos o alargados con vacuolas grandes.

Descripción microscópica del organismo en los medios líquidos.—

En los medios líquidos, son más abundantes los elementos levuriformes ovalados, de pared refringente y conteniendo grandes gotitas de grasa. También las hifas vegetativas poseen ensanchamientos.

En caldo maltosado, existen esporas endógenas del tipo de *Hemispóra stellata* y cadenas de esporas cuadrangulares angostas.

El caldo nutritivo es el medio que más favorece la formación de hemisporas y pueden observarse en este medio todos los estados de evolución (Fig. 28).

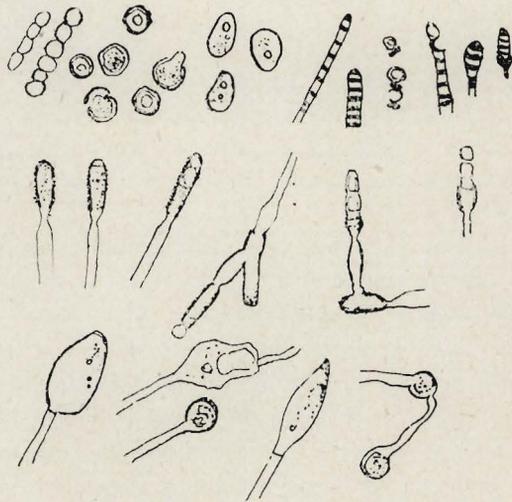


Fig. 28.—Aspecto de las estructuras microscópicas en los medios líquidos.

Resumiendo, podemos decir que *Malassezia ochoterenai* presenta en los diversos medios de cultivo los siguientes elementos:

Elementos hifales estéricos u ovalados que se forman por estrangulaciones de la hifa y que pueden considerarse **oidios**. Miden 2.8 micras de diámetro, su pared es lisa y refringente y su contenido hialino.

Clamidosporas intercalares o finales, aisladas o en cadenas, de pared gruesa, refringente y de contenido hialino o granuloso. Miden 5.5 micras de diámetro.

Esporas de formación endógena de dos tipos: unas que se forman sin estrangulación de la hifa. Generalmente se forman cuatro esporas, que se separan de la hifa que las originó por un tabique. Estas cadenas de esporas (ascas) poseen una pared gruesa, pigmentada que se rompe y deja salir esporas (ascosporas) esféricas de pared lisa, pigmentada y de contenido granuloso o hialino con un glóbulo dentro. Otras esporas endógenas, se forman como las endosporas de *Hemispora stellata*, la pared de la terminación de una hifa fértil se vuelve gruesa, se pigmenta, y se estrangula cerca del ápice. Se forman esporas (ascosporas) empezando del ápice, se tabica la pared debajo de una o dos esporas y luego se separan de la hifa fértil.

Elementos levuriformes, esféricos de doble pared, formada de dos partes una más pequeña que otra; otros poseen pared entera y otros son ovalados.

Artrosporas cuadrangulares y delgadas.

Closterosporas raras, de dos o tres lóculos.

Hifas vegetativas, de paredes gruesas o delgadas, de contenido hialino o granuloso, con o sin ensanchamientos de reserva.

Por la formación especial de las esporas endógenas, y la semejanza con las descritas como ascas en el género *Hemispora*, se considera que sean ascas y ascosporas de origen partenogenético, pues no se observan fenómenos sexuales.

Las ascas entonces se forman en *M. ochoterenai* aisladas o en cadenas, poseen una membrana gruesa y pigmentada, lisa o ligeramente rugosa. Las ascosporas son de pared lisa y son una, dos, o más frecuentemente cuatro en una asca.

Reacciones bioquímicas.

Fermentación de carbohidratos

Para estudiar el poder fermentativo de *Malassezia ochoterenai* se empleó agua peptonada de Dunham añadiendo 2% de azúcar. Se usaron tubos de Smith para observar la producción de gas. La formación de acidez y de alcalinidad, se comprobó midiendo potenciométricamente el pH antes de sembrar y después de 20 días de desarrollado el hongo. Los resultados fueron los siguientes:

Carbohidratos	Gas	Acidez
Arabinosa.	—	—
Glucosa.	—	ligera (de pH 7.2 bajó a pH 6.9)
Xilosa.	—	ligera (de pH 6.9 bajó a pH 6.6)
d-Levulosa.	—	ligera (de pH 7 bajó a pH 6.7)
d-Galactosa.	—	ligera (de pH 7 bajó a pH 6.8)
Mannosa.	—	ligera (de pH 7.2 bajó a pH 6.9)
Lactosa.	—	—
Sacarosa.	—	ligera (de pH 7.6 bajó a pH 7.0)
Maltosa.	—	ligera (de pH 7.3 bajó a pH 7.1)
Cellobiosa.	—	—
Almidón.	—	—
Inulina.	—	—
Dextrina.	—	—
(Mannitol.)	—	—

Se produce ligera **alcalinidad** con cellobiosa (de pH 7.2 subió a pH 7.5) y con inulina (de pH 7.2 subió a pH 7.5).

Acción sobre la leche tornasolada

La *Malassezia ochoterenai* empieza a alcalinizar la leche tornasolada, a los 10 días.

Acción sobre la gelatina

No licúa la gelatina.

Producción de indol: se investigó la producción de indol usando agua peptonada de Dunham añadida de 0.1% de caseína (pH 7); empleando el método de Ehrlich-Bohme, se comprobó a los 5 y 10 días que *M. ochoterenai* no produce indol.

Reducción de nitratos

Se comprobó en un cultivo de 5 días desarrollado sobre caldo nutritivo añadido de 0.1% de KNO_3 , empleando el método de Griess-Illsova. El resultado fué negativo a los 5 y 10 días.

Producción de amoníaco: el reactivo de Nessler reveló la ausencia de amoníaco en un cultivo de 5 días, desarrollado sobre agua peptonada.



Reducción del azul de Metileno

No se produce decoloración del azul de Metileno.

Propiedades metabólicas.

La *Malassezia ochoterenai* es aerobia pero puede crecer en presencia de poco oxígeno libre. Crece bien a temperatura del laboratorio. Produce un pigmento negro en los medios siguientes: infusión de frijol gelosa, gelosa glicerizada al 6%, infusión de patata gelosa y glucosada, solución de Raulin gelatina, solución de Hayduk gelatina, mosto simple, infusión de frijol y caldo maltosado. Los medios con azúcares favorecen el desarrollo de este hongo.

Resistencia: un cultivo de un mes crecido en Sabouraud líquido y calentado durante 15 minutos a 100° C, dió resultado negativo al ser resembrado. La resistencia de este organismo es entonces pequeña.

Inoculaciones: las inoculaciones en cobayos, aplicando cultivos jóvenes de *Malassezia ochoterenai* sobre la piel rasurada, dieron resultados negativos.

Conclusiones: es evidente que la dermatofita estudiada pertenece al género *Malassezia*. Es un parásito que sólo invade las capas externas de la epidermis y las glándulas sebáceas. No es fácil de aislar y sus colonias son secas. En las escamas se encuentra en forma de pequeñas células levuriformes y micelio de cortos filamentos. Estos caracteres son típicos del género.

Hasta la fecha, sólo se ha citado una especie de *Malassezia* que produzca pityriasis versicolor: la *Malassezia furfur* (Robin) Baillon 1889. Recientemente M. Moore ha cultivado y descrito en detalle esta especie.

Un estudio comparativo de *Malassezia furfur* y la *Malassezia* aislada en México, comprueba que se trata de dos organismos distintos.

Las lesiones que producen las dos *Malassezias* son idénticas, producen pityriasis versicolor.

Los caracteres microscópicos de los organismos en las escamas sólo difieren en detalles insignificantes.

Los caracteres de cultivo macroscópicos difieren principalmente, en que *Malassezia ochoterenai* nunca da cultivos mucoides, filamentosos y francamente brillantes, de color blanquizco o grisáceo sino que sus cultivos son siempre secos y de color moreno.

Al microscopio se encuentran elementos muy semejantes en una y otra *Malassezia*. Las células fusiformes tan abundantes en *M. furfur*

nunca se observan en *M. ochoterenai*. Todos los demás elementos descritos en *M. furfur* pudieron encontrarse en *M. ochoterenai*. El carácter microscópico distintivo más importante son las esporas endógenas que no se describen en *M. furfur*. Sin embargo, se encuentran en las ilustraciones de *M. furfur* elementos muy semejantes a hemisporas del tipo de *Hemispora coremiformis* (compárese en el trabajo "Cultivation of *Malassezia furfur*, etiological agent of pityriasis (tinea) versicolor" en la plana 6 las figuras 3 y 4, con las del trabajo "Head infection caused by a new *Hemispora*: *H. coremiformis*" en la plana 9, fig. 15, y plana 16, fig. 40).

Las células levuriformes de dos membranas no se citan en *M. furfur*.

Por lo que respecta a los caracteres bioquímicos es indudable que estas dos dermatofitas sean especies diferentes.

A continuación se anotan los caracteres diferenciales de las dos especies, agentes causales de pityriasis versicolor.

	<i>Malassezia furfur</i> (Robin) Baillon 1889.	<i>Malassezia ochoterenai</i> Maecke 1941.
Aspecto en las esca- mas.	Filamentos cortos de 3 micras de diámetro y de 10 a 16 micras de longitud. Esporas esféricas de 3-6, a veces 8 micras.	Filamentos cortos de 3.4 micras de diámetro y de 14 a 18 micras de longitud. Esporas esféricas de 3 a 5.3 micras.
Caracteres de cultivo macroscópicos.	Desarrollo abundante, cultivo plano, opaco, algo elevado en el centro, color blanco grisáceo volviéndose verde amarillento a ocre; con la edad moreno.	Desarrollo escaso, cultivo plano, de color moreno ligeramente grisáceo desde los 5 días.
Agar-Czapeck:		
Mosto-gelosa:	Cultivo húmedo y brillante, mucoso, filamentososo, punciforme en apariencia. Color como el del ante. Colonias gigantes demuestran crecimiento arborescente (<i>arbor vitae</i>), con las venas en color canela subido. La superficie de la colonia se vuelve vermiforme o cerebriforme con depresiones crateriformes.	Cultivo seco, opaco, aterciopelado primero, luego pulverulento. Color moreno pronunciado ligerísimamente grisáceo. Colonias gigantes sin crecimiento arborescente. La superficie de la colonia no es cerebriforme sólo el centro más elevado es crateriforme y presenta ligeras depresiones irregulares.

	Malassezia furfur (Robin) Baillon 1889.	Malassezia ochoterenai Maecke 1941.
Sabouraud maltosado:	Colonias planas, opacas, del aspecto y color de la mantequilla rancia, grisáceo-blancas a amarillentas; con la edad moreno-ocráceas. Las colonias se vuelven algo punctiformes desarrollando vesículas.	Colonia característicamente abultada. Color desde un principio moreno pronunciado, ligeramente grisáceo. No es de naturaleza vesicular.
Infusión de patata gelosada y glucosada:	Desarrollo abundante. Colonia irregular, vermicular, opaca con crecimiento micelial plano. Color canela oscuro. Las porciones viejas se vuelven grisáceas. Cultivo mucoide y filamentos.	Desarrollo abundante. Colonia circular de bordes ondulados, elevada, cerebriforme, aterciopelada. El color es pronunciado, moreno ligerísimamente grisáceo. El cultivo nunca es mucoide ni filamentos, sino que la consistencia es como la del cartón.
Gelosa glicerínada:	Desarrollo abundante. Cultivo vermicular, cerebriforme, elevado, opaco pero algo brillante y mucoide al examinarlo en detalle. El color es el del ante con las porciones viejas gris-blancas que son de micelio corto, ligeramente elevado y seco.	Desarrollo muy abundante. Ligeramente cerebriforme, elevado, opaco, nunca brillante o mucoide, el color es moreno como el de la tierra de siembra; con la edad adquiere manchas más claras.
Medios a base de caldo:	Islotes al principio, luego se unen y forman una membrana. Sedimento en el fondo del tubo.	Islotes al principio que no siempre se unen para formar una membrana. Sedimento escaso en el fondo del tubo.
Caracteres de cultivo microscópicos.	Células alargadas fusiformes. Células aisladas levuriformes hasta de 10 micras de diámetro con membrana entera. No se describen hemisferas.	No hay células alargadas fusiformes. Células aisladas levuriformes hasta de 10 micras de diámetro con membrana entera o formada de dos partes. Abundantes hemisferas.
Reacciones bioquímicas.	Licuefacción de la gelatina, empieza a los 5 días. La leche tornasolada se acidifica después de los 10 días. Se produce indol. Acido sin gas con: dextrosa, d-xilosa y d-levulosa. Ni ácido ni gas con: maltosa, lactosa, sacarosa, d-galactosa, dextrina, d-mannitol, arabinosa y almidón.	No hay licuefacción de la gelatina. La leche tornasolada se alcaliniza después de los 10 días. No se produce indol. Acido sin gas con: glucosa, xilosa, d-levulosa, d-galactosa, sacarosa y maltosa. Ni ácido ni gas con: lactosa, dextrina, mannitol, arabinosa y almidón.

La comparación de esta *Malassezia ochoterenai*, con la ***Malassezia Macfadyeni Castellani*** y la ***Malassezia tropica (Castellani) Schmitter***, que originan pityriasis alba y pityriasis flava respectivamente, no puede hacerse sino hasta que esos organismos hayan sido cultivados y estudiados con mayor detalle. Los pocos datos que cita Dodge acerca de estas especies sin embargo no concuerdan con los datos de *M. ochoterenai*.

Las descripciones de ***Malassezia ovalis*** (Bizzozero) por M. Moore y por J. Lodder (este último autor cita además las descripciones de Sabouraud y Benedek) descartan por completo la posibilidad de identificar esta especie con *M. ochoterenai*.

Existe todavía una última de *Malassezia*, ***Malassezia pachidermatis (Weidman) Dodge***, que asimismo no puede identificarse con la nueva especie descrita.

Queda pues establecida una nueva especie de *Malassezia*, con los siguientes caracteres diferenciales.

Malassezia ochoterenai Maecke n. sp. En las escamas, células levuriformes de 3 a 5.3 micras de diámetro y filamentos hifales cortos de 14 a 41 micras de longitud por 3.4 micras de anchura. En medios de cultivo artificiales, abundante micelio formado de hifas septadas y ramificadas, de 3 micras de diámetro; células levuriformes de 6.1 a 9.5 micras, esféricas u ovaladas, de membrana simple o doble; oidios de 2.8 micras de diámetro y ascas aisladas o en cadenas de pared pigmentada, lisa o ligeramente rugosa, conteniendo 1, 2, 4 u 8 ascosporas de pared lisa. Sexualidad ausente. Los cultivos son secos, aterciopelados, cerebriformes o planos, de un color característico moreno-chocolate que sólo varía ligeramente en los diversos medios. No forma gas, pero produce ligera acidez en: glucosa, xilosa, d-levulosa, d-galactosa, sacarosa y maltosa. No produce gas ni ácido en: arabinosa, lactosa, cellobiosa, almidón, inulina, dextrina y manitol. Produce ligera alcalinidad, en cellobiosa e inulina. No produce indol. No licúa la gelatina. Alcaliniza la leche tornasolada.

Malassezia ochoterenai Maecke n. sp. In squamis cellulae levuriformes diametro 3-5.3 micrarum; hyphae breves filiformes 14-41 micras longae, 3-4 micras latae. In culturis mycelium abundans, hyphis septatis ramulosisque diametro 3 micrarum eformatum; cellulae levuriformes 6.1-9.5 micrarum, sphaericae vel ovatae, una duplicive membrana; oidia diametro 2.8 micrarum; chlamydosporae diametro 5.4 micrarum; ascae solitariae vel catenulatae, membrana colorata, laevi parumve rugosa, duasque, quattuor octove ascosporas laevi membrana continentes. Sexus deest. Culturae siccae, sericeovillosae, cere-

briformes vel planae, peculiari colore brunneo "chocolate" in variis mediis leviter tantum mutato. Acidus debilis in: glucosa, xilosa, d-levulosa, d-galactosa, saccharosa et maltosa. Fermentatio nulla in: arabinosa, lactosa, cellobiosa, amylo, inulina, dextrina et mannita. Alkali debilis in cellobiosa et inulina. Indol non gignit. Gelatinum non liquefacit. Litmum lac alcalinum facit.

M. Moore opina que debe colocarse al género *Malassezia* cerca de *Oidium*, *Oospora*, *Geotrichum* y *Mycoderma*, entre las *Eremascaceae Imperfectae* de Dodge, por la ausencia de esporas sexuales o ascosporas, y por el desarrollo de elementos hifales que pueden interpretarse como oidios.

El hecho de encontrar una *Malassezia* que produzca ascosporas análogas a las que produce el género *Hemispora*, permite colocar al género *Malassezia* entre las *Eremascaceae* de Dodge.

El género *Hemispora*, con sus especies *H. stellata* Vuillemin y *H. coremiformis* Moore, es muy cercano al género *Malassezia*. La diferencia principal, es la producción de ascosporas lisas, no equinuladas y los tipos de lesiones.

Se duda si *H. stellata* y *H. coremiformis* sean diferentes especies. En este caso existirían también como en la *M. ochoterenai* 2 tipos de esporas endógenas; unas que se forman en el ápice de una constricción hifal y otras que se forman sin esa constricción.

Quedaría entonces modificada la clave de los géneros de la Familia *Eremascaceae* de Dodge de la siguiente manera:

- | | |
|---|--------------------|
| Ascas formadas por copulación en la punta de dos brazos de copulación enrollados..... | Eremascus. |
| Ascas formadas por copulación heterogénea de dos brazos de copulación rectos, o raramente partenogénicas | Zymonema. |
| Ascas desarrolladas sin trazas de copulación: | |
| Esporas usualmente 4-8 por ascas; asca de pared delgada. Normalmente no hay micelio por germinación, hay micelio espatulado | Oleina. |
| Micelio por germinación presente, no hay micelio espatulado | Octomyces. |
| Esporas usualmente 1, 2 y 4 por asca. | |
| Ascas solitarias, de paredes gruesas, ascosporas de paredes delgadas, lisas | Bargellina. |

- Ascas en cadena, de paredes delgadas, ascosporas equinuladas **Hemispora.**
 Ascas en cadenas o solitarias, de paredes gruesas, es-
 cosporas de paredes delgadas y pigmentadas.... **Malassezia.**

S U M M A R Y

A new species of *Malassezia*, *Malassezia ochoteranoi* is described.

The organism produces a typical pityriasis versicolor of the chest.

The microscopic picture of the scales is very similar to that of *M. furfur*.

On artificial media the colonies are dark brown, dull, velvety, never moisty nor shiny, cerebriforme or flat.

The dermatophyte is characterized by the formation of "hemisporae" on various media.

Also clamidospores and oidia — like cells are produced in abundance.

Yeast — like cells are seen in most media.

Gelatine is not liquefied.

Indol is not produced.

Litmus-milk is alcalinized starting on the 10th day.

Acid and no gas with glucose, xilose, d-levulose, d-galactose, mannose, sacarose and maltose.

No acid or gas with arabinose, lactose, cellobiose, starch, inuline, dextrine and mannitol.

The production of a black pigment which difuses in some media is characteristic.

In spite of the presence of oidia — like cells and of endogenous spores similar to those of the genus *Hemispora* the genus *Malassezia* is placed into the *Eremasaceae* of Dodge.

BIBLIOGRAFIA

- CIFERRI, R.—Sur un *Acrothecium* isolé du "Mal del Pinto" Mexicain, *Acrothecium nigrum* n. sp.
 Ann. Parasi tol. Hum. Comp. T. VII. p. 524-535, 1929.
- DARIER, SABOURAUD, GOUGEROT, MILIAN, PAUTRIER, RAVAUT, SEZARY, SIMON.—Nouvelle pratique dermatologique Masson et Cie.
 Editeurs, Paris. p. 271283 y 608-612, 1936.
- DODGE, W. C.—Medical Mycology.
 St. Louis. The C. V. Mosby Company. p. 358-424, 1935.
- LANGERON, M. et GUERRA, P.—Nouvelles méthodes d'étude des champignons levuriformes.
 Soc. Argentina de Patología del Norte, 8a. Reunión, p. 98-105, 1933.
- LODDER, J.—Die anaskosporogenen Hefen. Erste Haelfte. N. V. Noord. Hollandsche Uitgevrsmatschppij. Amsterdam. p. 183-190, 1934.
- MOORE, M.—Had infection caused by a new *Hemispora*: *H. coremiformis*. Ann. Mo. Bot. Gard. Vol. 22, p. 317-334, 1935.
- MOORE, M.—Cultivation of *Malassezia furfur*, etiological agent of pityriasis (tinea) versicolor.
 Mycopathologia, Vol. I, Fasc. 1, p. 53-61, pl. VI-XIII, 1938.
- MOORE, M.—*Malassezia furfur*, the cause of tinea versicolor. Arch. Dermaf. and Syph. Vol. 41, p. 253-260, 1940.
- SABOURAUD, R.—Diagnostic et traitement des affections du cuir chevelu.
 Masson et Cie, Editeurs, Paris. p. 153-175, 1932.