

## Prevalencia de *Demodex sp.* en Pacientes con Blefaritis\*

HANNALI RODRÍGUEZ<sup>1</sup>

ASESORES: DRA. ZOILA GUILLEN<sup>2</sup> y LIC. GIULIANA ROMERO<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Centro de Salud de Lince MINSA DISA V – Lima Ciudad. <sup>2</sup>Ex Profesor Principal de la Facultad de Medicina UNMSM.

<sup>3</sup>Departamento Académico de Microbiología Médica de la Facultad de Medicina UNMSM

### RESUMEN

**OBJETIVO:** El objetivo principal del presente trabajo fue determinar la prevalencia de *Demodex sp.* en los folículos pilosos de pestañas de pacientes que acudieron al Laboratorio de Microbiología del Instituto Nacional de Oftalmología (INO) de Lima, durante el periodo Dic.97 a Feb.98. **MATERIAL Y MÉTODOS:** El estudio es de carácter observacional, transversal; se tomó muestras en los folículos pilosos de pestañas de 196 pacientes de ambos sexos y diversas edades que acudieron al INO con sintomatología compatible con blefaritis, para el descarte de infestación por ácaros. **RESULTADOS:** El 51% de la población examinada presentó *Demodex sp.* en las pestañas; de éstos el 21% estuvo en el rango de 61-70 años de edad; el 62% de los hallazgos positivos correspondieron a pacientes del sexo femenino y el 38% a pacientes del sexo masculino. Los signos y síntomas más frecuentes fueron escozor (90%); secreción y enrojecimiento (80%), molestias en la visión (74%), seborrea (70%), ardor (66%), lagrimeo (63%), caída de pestañas (60%) eritema (39%), chalazion (18%) y edema (11%). El recuento de ácaros por lámina por paciente fue alto y la cifra encontrada con mayor frecuencia estuvo en el rango de 5-10 ácaros por lámina (28%). **CONCLUSIONES:** Es elevada la prevalencia (51%) de *Demodex sp.* en la muestra estudiada; la edad del paciente estuvo directamente relacionada con la infección.

*Palabras claves:* Ácaros; infestaciones por ácaros; blefaritis; diagnóstico de laboratorio.

### *Demodex sp.* PREVALENCE IN PATIENTS WITH BLEPHARITIS SUMMARY

**OBJECTIVE:** To determine the prevalence of *Demodex sp.* in the hair follicles of patient's lashes. **Setting:** Lima's Laboratory of Microbiology of the National Institute of Ophthalmology (INO), between December '97 and February '98. **MATERIAL AND METHODS:** Observational and cross-sectional study. We collected samples of lashes of 196 patients of both sexes, various ages and with symptoms of blepharitis. **RESULTS:** Fifty-one percent of the patients studied had *Demodex sp.* in their lashes; 21% of these were between 61-70 year-old; 62% of the positive ones were women and 38% men. The more frequent signs and symptoms were itching (90%), secretion and flashing (80%), vision nuisances (74%), seborrhea (70%), burning (66%), tears shedding (63%), fall of lashes (60%), erythema (39%), chalazion (18%) and edema (11%); acari per field count was high between 5-10 acari per field (28%). **CONCLUSIONS:** The frequency of *Demodex sp.* (51%) was high in the study and patient's age is directly related with the infection.

*Key words:* Mites; mites infestations; blepharitis; diagnosis, laboratory.

\* Trabajo presentado como Tesis para optar el Título Profesional de Licenciado en Tecnología Médica en la Facultad de Medicina - UNMSM.

#### Correspondencia:

Lic. Hannali Rodríguez Comesaña  
Calle Los Bardos MzG4 Lt8  
Chorrillos. Lima 9 - Perú  
E-mail: hannali-rodriguez@usa.net

## INTRODUCCIÓN

Los *Demodex sp.* son ácaros microscópicos de la clase arácnida y subclase ácaro, cuyos adultos miden aproximadamente 300 µm de largo por 40 µm de ancho, siendo la hembra de mayor tamaño que el macho, son vermiformes, más anchos en su extremo anterior. *Demodex sp.* ha sido implicado en el desarrollo de varias enfermedades oculares y dérmicas, pero su rol patógeno continúa en discusión (1-8).

Aylesworth y Corwin (18) señalan que Henle y Berger, en 1841, trabajando independientemente, observaron por primera vez especímenes de *Demodex sp.* en folículos pilosos de humanos y que Akbulatova en 1963 distinguió dos formas del parásito a las que Desch y Nutting en 1972 se refieren como especies independientes: *Demodex folliculorum* y *Demodex brevis*. Vassallo y Martín - Rabadán (13), atendiendo a características de localización en diversos nichos del cuerpo, consideran que *Demodex folliculorum* se encuentra en el folículo piloso y *Demodex brevis* en las glándulas sebáceas.

En el Perú, existen pocas referencias bibliográficas de *Demodex sp.* en humanos; Siverio y Mendiola (21) estudiaron 20 casos de blefaritis; de ellos, en 8 se encontró *Demodex folliculorum*. Guillén H. (22) hizo un estudio en 239 pobladores de la zona urbano marginal de Arequipa, encontró un 5% de ellos infestados con *Demodex sp.* y la edad más frecuente fue la séptima década de vida. Guillén Z. y cols., (23) reportaron a *Demodex sp.* como un ácaro Prostigmata de importancia médica en el Perú.

*Demodex sp.* vive en los folículos pilosos y glándulas sebáceas del hombre con sus cabezas dirigidas hacia la base, entrando y saliendo del folículo. *Demodex folliculorum* habita el margen palpebral del ojo, particularmente en la porción infundibular del folículo piloso y puede estar presente en número variado. (18,21,22). *Demodex brevis*, habita en las glándulas sebáceas y de Meibomio, predominantemente, además por lo general se le encuentra solitario (4). Las dos especies pueden ser encontradas en pestañas, sien, nariz, área periorbital, frente, mejillas, mentón, pecho, espalda, cuero cabelludo, barba y otras zonas donde hay un gran número de glándulas sebáceas (4,7,11,18,25). El ciclo evolutivo dura alrededor de 14,5 días y se realiza en el hospedero, en el cual se encuentran todos los estadios: huevo, larva

ápoda, larva hexápoda, ninfa octópoda y adulto. En la abertura del folículo, se realiza la copulación, la hembra grávida retorna al folículo donde oviposita; los huevos tienen forma de punta de flecha u ovalada, según la especie; eclosionan a larvas ápodas, mudan dos veces, convirtiéndose en larvas hexápodas con muñones rudimentarios y luego se convierten en ninfas octópodas que se arrastran en la superficie para entrar en otro folículo, donde se transforman en adultos y permanecen allí por 5 a 6 días (3,13,22). La forma de contagio es por contacto directo, es así como los *Demodex sp.* pueden ser encontrados en personas de todas las edades, excepto en recién nacidos, los cuales se contagian posteriormente al estar en contacto con el ácaro (3). La forma infestante son todos los estadios larvarios y adultos del parásito.

El rol patógeno de *Demodex sp.* aún está en discusión. Algunos autores lo consideran como un parásito oportunista (1-5,9-14); otros han considerado que puede actuar como vector de hongos y bacterias (3,13,16). También hay quienes manifiestan que pueden vivir en simbiosis con el hombre (1,3-7,10,12,18,26). Estos parásitos han sido asociados a casos de leucemia (5,8), rosacea (2,3,10,11,18-20), SIDA (1,4,14), blefaritis (6,13,15-17,21-23,27) foliculitis (3,4,7,17), chalazion (13,16,21) y otros.

Se presume que produce blefaritis, provocando prurito moderado, enrojecimiento palpebral, caída de pestañas, formación de costras y/o escamas en el párpado, ardor, formación de tejido fibroso alrededor del parásito, lo que es observado en las biopsias (6,13,17,21,23). La infestación en el hombre por ácaros del género *Demodex* puede ser asintomático o bien producir un amplio espectro de manifestaciones clínicas, existiendo una relación directa entre el grado de parasitación y la intensidad de los síntomas (6,13).

El presente estudio tiene como objetivo principal determinar la prevalencia de *Demodex sp.* en los folículos pilosos de las pestañas de pacientes que acudieron por blefaritis, teniendo como variables la edad, sexo, grado de instrucción, ocupación, condiciones sanitarias, signos y síntomas y recuento de ácaros. En nuestro país no disponemos de información reciente al respecto; razón por la que *Demodex sp.* no es considerado frecuentemente en el diagnóstico diferencial de las blefaritis; son necesarios entonces estudios adicionales al respecto.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo es observacional, prospectivo y transversal (28), se coleccionó muestras de 196 personas que acudieron a la consulta hospitalaria del Instituto Nacional de Oftalmología (INO) y remitidos al laboratorio de Microbiología para realizarles un examen de búsqueda de parásitos en el folículo piloso de las pestañas, debido a que presentaban sintomatología compatible con blefaritis por *Demodex sp.*

Se entrevistó a los pacientes, haciendo uso de una ficha epidemiológica, a través de la cual se pudo obtener los datos de edad, sexo, condiciones sanitarias, signos y síntomas y resultados del examen microscópico.

La toma de muestra se llevó a cabo de la siguiente manera: haciendo uso de una pinza para depilar cejas de uso cosmético; previamente esterilizada al fuego y fría, se procedió a realizar un suave rascado de la base de los párpados del paciente, después del cual se tomó muestras de pestañas, tres de cada párpado (sup. der., sup. izq., inf. der., inf. izq.), incidiendo en las zonas representativas como las comisuras palpebrales, especialmente en el párpado inferior. Las pestañas extraídas se pusieron en láminas portaobjeto y sobre ellas se colocó una gota de xilol para matar y aclarar al ácaro, si lo hubiera; luego se cubrió con laminilla cubreobjeto de 22 x 32 mm. y se procedió a observar en el microscopio con los objetivos de 4x, 10x, 40x; el recuento se realizó con el objetivo de 4x y se consideró por igual todos los estadios de ácaro. Posteriormente se hizo el montaje con Bálsamo de Canadá para realizar los estudios y tomar las fotografías.

## RESULTADOS

De los 196 pacientes estudiados, 100 pacientes (51%) estuvieron infestados con ácaros del género *Demodex sp.* en todos sus estadios. En relación con la edad, los paciente tenían entre 11 a 80 años de edad, y existió un incremento de la prevalencia conforme aumentaba la edad, así *Demodex sp.* se presentó con mayor frecuencia en la sexta década de vida (61-70 años) con 21% del total de positivos (Figura 1). El 62% del total de positivos fueron del sexo femenino y los pacientes de sexo masculino fueron el 38%. Acerca del grado de instrucción de los pacientes, encontramos que 2% eran analfabetos, 31% con educación primaria; 32%

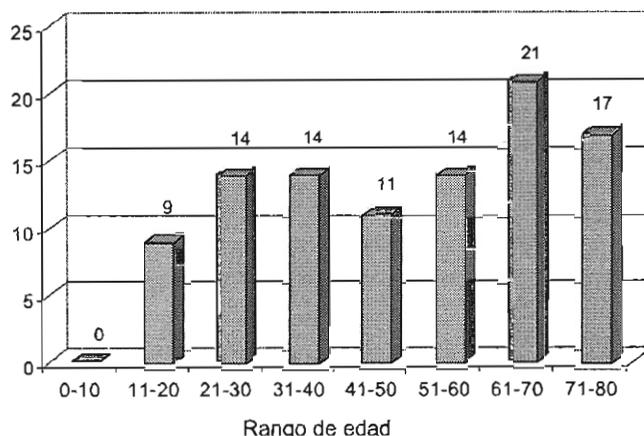


Figura 1.- Pacientes positivos a *Demodex sp.* según edad.

con estudios secundarios, y 35% con estudios superiores. En cuanto a la ocupación observamos la presencia de *Demodex sp.* en pacientes de diversas ocupaciones; siendo los más afectadas las amas de casa, (33%). En lo que respecta a las condiciones sanitarias, el aspecto higiénico de los pacientes fue bueno en el 73%, regular en el 24% y malo en el 3% del total de positivos, el uso de la toalla, en el 61% de infestados fue personal y en el 39% de los mismos fue de uso común; con relación a la tenencia de animales, el 60% manifestó tenerlos, siendo el perro el animal más común. Los signos y síntomas más frecuentes en los pacientes fueron: escozor (90%) secreción y enrojecimiento (80%). El número de ácaros por lámina de cada paciente fue alto, en el rango entre 5-10 ácaros por lámina el más frecuente (28%); cabe destacar que 2% de los pacientes positivos tuvieron más de 80 ácaros por lámina y 18% de los pacientes positivos tuvieron menos de 5 ácaros por lámina.

## DISCUSIÓN

La infestación por *Demodex sp.* en los folículos del borde palpebral en humanos es frecuente y se ha considerado como causa de blefaritis (6,13,15-17,21-23,27); aunque esto es poco conocido por oftalmólogos de nuestro medio. El rol patógeno, de *Demodex sp.* aún no ha sido determinado; pero en otros países se le está considerando como causante o factor que contribuye al

desarrollo de enfermedades oculares y/o dérmicas y muchos autores lo consideran un parásito oportunista (1-8,10,11,13-23,27).

La prevalencia de infestación por *Demodex sp.* (51%), se considera alta, en comparación con los resultados obtenidos por: Aylesworth y Corwin (18) quienes estudiaron biopsias cutáneas y folículos que procesaron histológicamente y colorearon con Hematoxilina-Eosina y encontraron en un 22%; Siverio y Mendiola (21) estudiaron muestras de pestañas cuyo montaje se realizó con aceite de cedro; encontrando 40% de prevalencia; Guillén H. (22) encontró 5% de prevalencia; el porcentaje encontrado en nuestro estudio, es menor que el encontrado por Sengsbusch y Hauswirth (10), quienes estudiaron muestras de grasa exprimida de los pliegues nasolabiales cuyo montaje fue realizado en medio de Hoyer y examinado en microscopio de contraste de fases, encontrando 54,9% de prevalencia; Humiczewska (15), estudió muestras de los bordes palpebrales y obtuvo un 68% de prevalencia; Sibenge y Gawkrödger (11), estudiaron muestras de pestañas, tapones de queratina y grasa de piel facial, cuyo procedimiento fue: montaje de pestañas con glicerina, tratamiento de tapones de queratina con KOH al 40% y la grasa de la piel fue extendida directamente en lámina, luego todas fueron examinadas al microscopio, obteniendo 80% de prevalencia; Madeira y Sogayar (12) estudiaron muestras de restos de limpieza facial cuyo montaje se realizó en medio de Berlesés y examinado en microscopio de campo oscuro, encontrando 72% de prevalencia. Estas diferencias en cuanto a los porcentajes publicados, se deben probablemente a razones como el empleo de diversos tipos de muestras; diversos procesamientos de las muestras; diferentes clases de microscopios para el examen de las muestras.

En cuanto a la prevalencia según la edad, obtuvimos una mayor prevalencia en pacientes de la sexta década de vida con un 21% del total de positivos a diferencia de los resultados encontrados por: Siverio y Mendiola (21), quienes hallaron mayor prevalencia en la quinta década de vida; Guillén H. (22) en la séptima década de vida (25%); Sengsbusch y Hauswirth (10) en pacientes mayores de 50 años (66,7%), Sibenge y Gawkrödger (11) en la cuarta y séptima década de vida. Pero en lo que sí coinciden muchos estudios es en que la infestación por *Demodex sp.* está relacionada directamente con la edad, ya que el índice de parasitación aumenta conforme avanza la edad (3,8,10,11,16,18,21,22,25). Las

diferencias en estos resultados podrían ser por los diferentes rangos de edad en las poblaciones estudiadas.

Respecto al sexo de los pacientes, se encontró que el 62% del total de los positivos correspondió a pacientes del sexo femenino y el 38% a pacientes del sexo masculino; este resultado es comparable al obtenido por Guillén H. (22) que fue de 75% del sexo femenino y 25% del sexo masculino; en estudios realizados en otros países la infestación por *Demodex sp.* es equivalente entre pacientes del sexo masculino y femenino (3,11,21,25); y en otros estudios la infestación por *Demodex sp.* tiene mayor prevalencia en pacientes del sexo masculino (10,18); las discrepancias entre los resultados pueden ser debido al predominio de pacientes de uno de los sexos en la muestra poblacional; como en el presente estudio, ya que los pacientes que acudieron a consulta fueron en su mayoría del sexo femenino.

Con relación a la ocupación de los pacientes, encontramos la presencia de *Demodex sp.* en pacientes de diversas ocupaciones entre las cuales destaca ampliamente las amas de casa con 33% del total de positivos, éste resultado es comparable con el obtenido por Siverio y Mendiola (21) quienes de ocho casos positivos, cuatro (50%) fueron amas de casa.

En cuanto al grado de instrucción de los pacientes, encontramos que tampoco existe relación directa entre el grado de instrucción del paciente y la infestación *Demodex sp.*

Acerca de las condiciones sanitarias del paciente, cabe destacar que no tuvo relación directa entre éstas y el grado de parasitación del paciente; y el aspecto higiénico, en la mayoría fue bueno (73%), en cuanto al uso de toallas 61% manifestó el uso personal y el 39% uso común; y sobre la tenencia de animales, 60% tuvo algún animal en casa, siendo el perro el animal más común; resultados comparables a los obtenidos por Guillén H. (22), quien concluyó que la Demodexosis no está en relación directa con malos hábitos higiénicos. Pero consideramos que no deben desestimarse estos resultados y se sugieren como posibles factores de riesgo para contagio o adquisición de la infestación.

Respecto a los signos y síntomas más frecuentes, fueron escozor (90%), secreción (80%), enrojecimiento (80%), molestias en la visión (74%), seborrea (70%), ardor (66%), lagrimeo (63%), caída de pestañas (60%), eritema (39%), chalazions (18%), edema (11%) (Fig.

Nº 2); y al compararlas con los resultados hallados por Siverio y Mendiola (21) coinciden en que los signos y síntomas más frecuentes son: prurito o escozor, ardor, lagrimeo, caída de pestañas, chalazion, edema; y según Guillén H. (22): prurito o escozor, lagrimeo, ardor, sensación de cuerpo extraño y entre los signos más frecuentes: detritus, hiperemia conjuntival, descamado, caída de pestañas, chalazion, edema y ulceraciones. Millás M. (6) y Vasallo-Rabadán (13) coinciden en afirmar que la infestación en el hombre por *Demodex sp.* puede ser asintomática o bien producir un amplio espectro de manifestaciones clínicas, existiendo una relación directa entre el grado de parasitación y la intensidad de los síntomas y también a factores de predisposición innatos del huésped; argumento en el que concordamos: Se ha podido observar que en algunos pacientes la presencia de cinco ácaros por lámina es suficiente para causar molestias y en otros sucede con más de cinco a diez ácaros por lámina en otras personas.

En el Instituto Nacional de Oftalmología (INO), se considera que a partir de cinco ácaros por lámina, debe procederse a iniciar tratamiento adecuado al paciente. En nuestro estudio el número de ácaros encontrado con mayor frecuencia estuvo en el rango y de 5-10 *Demodex sp.* por lámina por paciente; con un 28% del total de positivos; cabe destacar que encontramos un 2% del total de positivos que presentaron más de 80 *Demodex sp.* por lámina y 18% con menos de 5 *Demodex sp.* por lámina por paciente; estos resultados no pudieron ser porque otros autores no hacen referencia al número de *Demodex sp.* hallado; la mayoría sólo indican la prevalencia en la población estudiada.

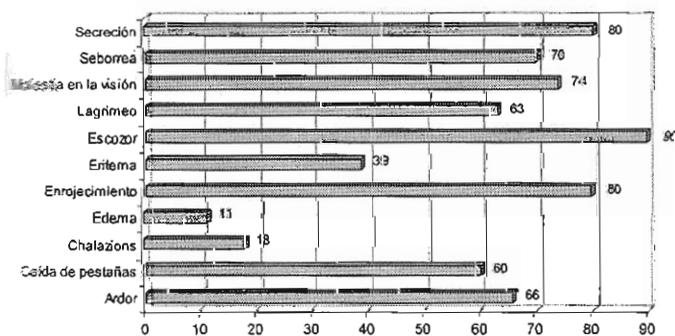


Figura 2.- Porcentaje de pacientes positivos a *Demodex sp.* según signos y síntomas.

Bonnar y Cols (3); Ivy y Cols (5); Sahn y Sheridan (8), coinciden en manifestar que la infestación por *Demodex sp.* se ve influenciada por el estado inmune del huésped, ya que cuando las defensas están comprometidas como resultado de una enfermedad adquirida o innata como SIDA, leucemias, uso de drogas como esteroides o el proceso natural de envejecimiento, el sobrepoblamiento de ácaros puede ocurrir; nosotros también estamos de acuerdo con estas informaciones.

### RECOMENDACIONES

- Se recomienda hacer un examen de búsqueda de ácaros *Demodex sp.* en pestañas; de todo aquel paciente que presente signos o síntomas compatibles con blefaritis.
- A las personas de la tercera edad que presenten signos o síntomas compatibles con blefaritis deben hacerse el examen de descarte de *Demodex sp.* obligadamente.
- El uso de toallas deben ser estrictamente personal para evitar contagios
- En cuanto al montaje con bálsamo de Canadá; se recomienda realizar la toma de fotografías lo antes posible, porque conforme pasa el tiempo, el ácaro tiende a aclararse demasiado.

### BIBLIOGRAFÍA

- 1) Ashack R, Frost M, Norins A. Papular pruritic eruption of *Demodex folliculitis* in patients with acquired immunodeficiency syndrome. *J Am Ac Derm* 1989; 21;2;1:306-7.
- 2) Bobrov V. Acne rosacea complicated with demodicosis. *Vestn. Otorinolaringol.* 1994; (4): 43-4.
- 3) Bonnar E, Eustace P, Powell F. The *Demodex* mite population in rosacea. *J Am Ac Derm.* 1993;28(3):443-4.
- 4) Dominey A, Rosen T, Tschén J. Papulonodular demodicosis associated with acquired immunodeficiency syndrome. *J. Am. Ac. Derm.* 1989;20;2;1;197-201.
- 5) Ivy S, Mackall C, Gore L, Hartley A. Demodicidosis in childhood acute *lymphoblastic leukemia*; an opportunistic infection occurring with immunosuppression. *J Pediatr* 1995; 127(5): 751-4.
- 6) Millás M. Parasitación por *Demodex folliculorum*. *Control de Calidad de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica.* 1997.
- 7) Purcell S, Hayes T, Dixon S. Pustular folliculitis associated with *Demodex folliculorum*. *J. Am. Ac. Derm* 1986;15;5;2:1159-1162.

- 8) **Sahn E, Sheridan D.** Demodicidosis in a child with leukemia. *J Am Ac Derm* 1992; 27;5;2: 799-801.
- 9) **King D, King L, Rabson S.** Demodex folliculorum of Simón. *J Am Ac Derm* 1983; 8(6): 906-7.
- 10) **Sengbusch H, Hauswirth J.** Prevalence of hair follicle mites, Demodex folliculorum and D. brevis (Acari: demodicidae), in a selected human population in western New York, USA. *J. Med. Entomol.* 1986; 23(4): 384-8.
- 11) **Sibenge S, Gawkrödger D.** Rosacea: A study of clinical patterns blood flow, and the role of Demodex folliculorum. *J Am Ac Derm* 1992; 26: 590-3.
- 12) **Madeira N, Sogayar M.** The prevalence of Demodex folliculorum and Demodex brevis in a population sample from Botucatu. Sao Paulo. Brasil. *Rev. Soc. Bras. Med.Trop* 1993; 26(4): 221-4.
- 13) **Vasallo F, Rabadan M.** Parasitación en pestañas por ácaros. *Enf. Infecc. Microbiol. Clin*, 1995;13(2):57-8.
- 14) **Cockerell C.** Cutaneous manifestations, Part 4: Parasitic Infections and Ectoparasitic Infestations. Medical Publications Corporation 1996:16.
- 15) **Humiczewska M.** Demodex folliculorum and Demodex brevis (Acarida) as the factors of chronic marginal blepharitis. *Wiad Parazytol* 1991; 37 (1): 127-30.
- 16) **Junemann A.** Demodex folliculorum in chronic blepharitis. Department of Ophthalmology, University of Erlangen-Numberg Germany 1998.
- 17) **Ponce F, Manyari A.** Ojos Secos Infecciosos e Inflamatorios. Cap 10 (citada 1996 Marzo 9). <http://www.ofthalmored.com/oioseco/cap10.htm>.
- 17) **Aylesworth R, Corwin V.** Demodex folliculorum and Demodex brevis in cutaneous biopsies. *J Am Ac Derm* 1982; 7(5): 583-9.
- 18) **Diaz J.** Demodex mites in rosacea. *J Am Ac Derm* 1994; 30(5): 812-3.
- 19) **Hoeczema R, Hulsebosch H, Bos J.** Demodicidosis or rosacea: what did we treat? *Br J.Derm* 1995; 133(2): 294-9.
- 20) **Siverio C, Mendiola C.** Blefaritis parasitaria. *Rev. Oftalmológica. Perú* 1983; 4(2): 82-6.
- 21) **Guillen H.** Demodexosis ocular. *Rev Per Oftalm* 1987; XII (2): 4-8.
- 22) **Guillen Z, Romero G, Pareja E, Valencia M, Lopez M, Suarez R.** Acaros de Importancia Médica en el Perú. Parte I. Anales de la Facultad de Medicina de la U.N.M.S.M. 1997. Vol. 58(2); 112-7.
- 23) **Brown H.** Parasitología Clínica . 4ta Edic. México; Edit. Interamericana; 1975.
- 24) **Hellerich U, Metzelder M.** Incidence of scalp involvement by Demodex folliculorum Simón ectoparasites in a pathologic anatomic and forensic medicine autopsy sample. *Archiv Kriminol* 1994; 194 (3-4): 111-8.
- 25) **Todd-Sanford-Davidsohn.** Diagnóstico y tratamiento clínico por el laboratorio. 1984, 7ma. Edic. Edit. Salvat. Tomo II, p. 1780.
- 26) **Elliot A; Caceres I.** Introducción a la Parasitología. 2da. Edic. Edit. Mastergraf. 1990.
- 27) **Mormontoy L.** Elaboración de un protocolo de investigación. 1ª Edic Lima; Boehringer Ingelheim editores; 1993.
- 28) **Carrillo F.** Cómo hacer la Tesis y el trabajo de investigación universitario. 6ta Edic. Lima; Edit.Horizonte; Lima, 1983.