



## **FACULTAD DE TECNOLOGÍA MÉDICA**

ASOCIACIÓN DEL AISLAMIENTO Y NÚMERO DE COLONIAS AISLADAS DE  
MALASSEZIA SPP CON EL TIPO DE AGAR UTILIZADO EN HISOPADOS DE PIEL  
DEL INSTITUTO NACIONAL DE SALUD DEL NIÑO DE BREÑA DURANTE  
MARZO-NOVIEMBRE DEL 2022

**Línea de investigación:**  
**Microbiología y parasitología**

Tesis para optar el título profesional de Licenciada en Tecnología Médica  
con especialidad en Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica

**Autora:**

Estrada Zárate, Deyna Xiomara

**Asesor:**

Rojas León, Roberto Eugenio  
(ORCID: 0000-0002-5803-9659)

**Jurado:**

Calderón Cumpa, Luis Yuri  
Yovera Ancajima, Cleofe del Pilar  
Rivas Cardenas, Arturo Alexander

**Lima - Perú**

**2023**



# "ASOCIACIÓN DEL AISLAMIENTO Y NÚMERO DE COLONIAS AISLADAS DE MALASSEZIA SPP CON EL TIPO DE AGAR UTILIZADO EN HISOPADOS DE PIEL DEL INSTITUTO NACIONAL DE SALUD DEL NIÑO DE BREÑA DURANTE MARZO-NOVIEMBRE

## INFORME DE ORIGINALIDAD

29%

INDICE DE SIMILITUD

28%

FUENTES DE INTERNET

5%

PUBLICACIONES

9%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

## FUENTES PRIMARIAS

1 [ddd.uab.cat](http://ddd.uab.cat) Fuente de Internet 5%

2 [docplayer.es](http://docplayer.es) Fuente de Internet 2%

3 [www.slideshare.net](http://www.slideshare.net) Fuente de Internet 2%

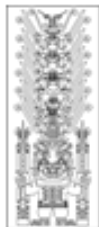
4 [repositorio.unfv.edu.pe](http://repositorio.unfv.edu.pe) Fuente de Internet 2%

5 [uaeh.redalyc.org](http://uaeh.redalyc.org) Fuente de Internet 2%

6 [alicia.concytec.gob.pe](http://alicia.concytec.gob.pe) Fuente de Internet 2%

7 [hdl.handle.net](http://hdl.handle.net) Fuente de Internet 2%

[repositorio.uoosevelt.edu.pe](http://repositorio.uoosevelt.edu.pe)



## **FACULTAD DE TECNOLOGÍA MÉDICA**

**ASOCIACIÓN DEL AISLAMIENTO Y NÚMERO DE COLONIAS AISLADAS DE  
*MALASSEZIA SPP* CON EL TIPO DE AGAR UTILIZADO EN HISOPADOS DE  
PIEL DEL INSTITUTO NACIONAL DE SALUD DEL NIÑO DE BREÑA DURANTE  
MARZO-NOVIEMBRE DEL 2022**

**Línea de investigación:** Microbiología y Parasitología

**Tesis para optar el Título Profesional de Licenciada en Tecnología Médica con  
Especialidad en Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica**

**Autor:**

Estrada Zárate Deyna Xiomara

**Asesor:**

Rojas León, Roberto Eugenio

ORCID: 0000-0002-5803-9659

**Jurados**

Calderón Cumpa, Luis Yuri

Yovera Ancajima, Cleofe del Pilar

Rivas Cardenas, Arturo Alexander

**Lima – Perú**

**2023**

## **TÍTULO**

“ASOCIACIÓN DEL AISLAMIENTO Y NÚMERO DE COLONIAS AISLADAS DE  
*MALASSEZIA SPP* CON EL TIPO DE AGAR UTILIZADO EN HISOPADOS DE PIEL  
DEL INSTITUTO NACIONAL DE SALUD DEL NIÑO DE BREÑA DURANTE MARZO-  
NOVIEMBRE DEL 2022”

### **Dedicatoria**

A Dios, por la fortaleza que siempre me ha  
brindado y por todas las bendiciones.

A mi madre Judith quien ha sido mi bastón en  
este camino empinado, mi guía para llegar a  
mi cumbre más alta. Este es tu logro mamá,  
gracias por inspirarme a realizar esta tesis, por  
cambiar tus sueños por los míos y cargar mi  
peso siempre en tus hombros.

A mis abuelos William y Fidelia quienes a  
pesar de la distancia siempre estuvieron cerca,  
por ser mis ejemplos de esfuerzo.

A los míos allá arriba, mi abuelo Valentín, mi  
bisabuela Victoria y Amir, quienes siempre  
guían mis pasos.

### **Agradecimientos**

A mi maestro, el Mg. Roberto Rojas León por las clases magistrales que hicieron despertar mi curiosidad por la Micología y por su apoyo constante en este camino.

Al Mg. Gian Carlos Ubillus, por la paciencia y el apoyo brindado durante la elaboración de esta tesis.

Y por supuesto a todo el Servicio de Microbiología del INSN Breña, por la gran ayuda brindada, por la paciencia, por las enseñanzas y por hacerme parte de su familia.

A Joy, por compartir su tiempo en todo este proceso.

## Índice

Resumen	6
Abstract	7
1.1. Descripción y formulación del problema	9
1.2. Antecedentes	10
1.3. Objetivos	15
1.3.1. <i>Objetivo general</i>	15
1.3.2. <i>Objetivos específicos</i>	15
1.4. Justificación	16
1.5. Hipótesis	17
<b>II. MARCO TEÓRICO</b>	<b>18</b>
2.1. Bases teóricas sobre el tema de investigación	18
2.1.1 <i>Malassezia</i>	18
2.1.1.2 Taxonomía	18
2.1.1.3 Características	18
2.1.1.4 Diagnóstico	20
2.1.1.5 Especies	22
2.1.1.6 Infecciones causadas por el género <i>Malassezia</i>	24
2.1.2 <i>Agar Leeming y Notman modificado (mLNA)</i>	27
2.1.3 <i>Cocos nucifera</i>	27
<b>III. MÉTODO</b>	<b>30</b>
3.1. Tipo de investigación	30

3.2. Ámbito temporal y espacial	30
3.3. Variables	30
3.3.1 Variable dependiente	30
3.3.2 Variable independiente	30
3.4. Población y muestra	32
3.4.1 Población	32
3.4.2 Muestra	32
3.5. Instrumento	33
3.6. Procedimientos	33
3.7. Análisis de datos	37
3.8. Consideraciones éticas	37
<i>IV. RESULTADOS</i>	38
<i>V. DISCUSIÓN DE RESULTADOS</i>	43
<i>VI. CONCLUSIONES</i>	46
<i>VII. RECOMENDACIONES</i>	47
<i>VIII. REFERENCIAS</i>	48
<i>IX. ANEXOS</i>	54



### Índice de tablas

Tabla 1. Especies de <i>Malassezia</i> descritas y huéspedes habituales _____	23
Tabla 2. Composición de ácidos grasos del aceite de coco _____	27
Tabla 3. Características del paciente evaluado _____	38
Tabla 4. Comparación de los resultados entre los agares evaluados _____	41
Tabla 5. Prueba de hipótesis para el número de colonias _____	42

### Índice de figuras

Figura 1 Composición de ácidos grasos de varias grasas y aceites comestibles _____	29
Figura 2 Comparación de resultados _____	40

## Resumen

**Objetivo:** Evaluar la asociación del aislamiento y número de colonias aisladas de *Malassezia sp.* con el tipo de agar utilizado en hisopos de piel del Instituto Nacional de Salud Infantil de Breña durante marzo-noviembre de 2022. **Método:** Se compararon agares de Leeming y Notman modificado y de este mismo con aceite de coco, donde se sembraron 180 hisopados de piel, recolectados durante marzo-noviembre del 2022 al ser un estudio observacional-longitudinal. Los medios de cultivo fueron monitoreados durante siete días, toda la información recolectada fue registrada en la ficha de trabajo. **Resultados:** Las lesiones en piel halladas con mayor frecuencia fueron las blanquecinas (38.9%) y la de menor frecuencia fue el querion (1.1%). Se obtuvieron las mismas frecuencias de aislamiento fúngico en ambos medios, siendo *Malassezia furfur* la más frecuente (23.3%), las medianas de los días de aislamiento de dicha levadura fueron las mismas. Sin embargo la mediana de las colonias fúngicas aisladas fue significativamente mayor ( $p=0.0251$ ) en el agar suplementado con aceite de coco en comparación con el tradicional. **Conclusiones:** Hay un predominio en este estudio de áreas blanquecinas en la piel. El tipo de agar utilizado no se asoció con el aislamiento de *Malassezia*, pero sí con el número de colonias. Ambos medios de cultivo son eficaces para aislar *Malassezia sp.* No obstante, el aceite de coco es mejor fuente lipídica que el aceite de oliva, pues se evidenció mayor cantidad de colonias desarrolladas en el agar suplementado con este, además de ser más accesible y económico.

*Palabras claves:* Malassezia, medios de cultivo, aceite de coco.

## Abstract

**Objective:** To evaluate the association of the isolation and number of isolated colonies of *Malassezia sp.* with the type of agar used in skin swabs from the National Institute of Child Health in Breña during March-November 2022. Method: Modified Leeming and Notman agars and the same with coconut oil were compared, where 180 swabs of skin, collected during March-November 2022 as it was an observational-longitudinal study. The culture media were monitored for seven days, all the information collected was recorded in the work sheet.

**Results:** The most frequently found skin lesions were whitish (38.9%) and the least frequent was the kerion (1.1%). The same frequencies of fungal isolation were obtained in both media, being *Malassezia furfur* the most frequent (23.3%), the median days of isolation of said yeast were the same. However, the median number of isolated fungal colonies was significantly higher ( $p=0.0251$ ) in the agar supplemented with coconut oil compared to the traditional one.

**Conclusions:** There is predominance in this study of whitish areas on the skin. The type of agar used was not associated with the isolation of *Malassezia*, but it was with the number of colonies. Both culture media are effective for isolating *Malassezia sp.* However, coconut oil is a better lipid source than olive oil, since a greater number of colonies developed in the agar supplemented with it were evidenced, as well as being more accessible and economical.

*Keywords:* Malassezia, culture media, coconut oil.

## I. INTRODUCCIÓN

El género *Malassezia* comprende un conjunto de levaduras lipofílicas que producen patologías en el estrato córneo de la piel del individuo. La más frecuente es la Pitiriasis versicolor. Según Torres et al. (2008) representa el 20% de las micosis superficiales, siendo predominante en países con climas tropicales como el Perú, donde hay un incremento de la incidencia en verano. La población afectada son infantes, adolescentes y jóvenes debido a la mayor producción sebácea que ocurre en el transcurso de la pubertad y adolescencia. Por lo general presentan problemas dermatológicos donde se puede observar máculas, en zonas que presenten pliegues o surcos. También en casos poco frecuentes puede producir fungemia en personas inmunocomprometidas o en pacientes que reciben una alimentación enriquecida en lípidos por catéter venoso central.

En la ayuda diagnóstica, se realiza un examen directo recolectando una muestra de impronta de piel, seguidamente es coloreada con Colorante de Kane y finalmente vista al microscopio, donde se observa las estructuras propias de dicha levadura. Es imprescindible el diagnóstico diferencial que se realiza mediante el aislamiento de este hongo en el agar Leeming y Notman modificado, suplementado con aceite de oliva (*Olea europaea*), siendo el tiempo de aislamiento siete días (Bejar et al., 2014). Este tiempo es amplio e inoportuno para casos donde se detecte sepsis en el paciente.

En la actualidad, en nuestro país existen pocos estudios relacionados con esta levadura, radicando aquí la importancia de buscar nuevas alternativas que permitan aislar *Malassezia sp.* en un periodo pertinente. Es por ello que, en este trabajo de investigación, se reemplazó el aceite de oliva por una nueva fuente lipídica, siendo esta el aceite de coco (*Cocos nucifera*), pues es de fácil obtención, más accesible en costo y con mayor cantidad de ácidos grasos para favorecer al desarrollo y crecimiento de *Malassezia sp.* en el agar.

## 1.1. Descripción y formulación del problema

En el mundo entero, los climas tropicales y subtropicales son algunos de los factores que predisponen la infección por micosis superficiales. A esto se le añade factores tales como el comportamiento de la población respecto al lugar donde viven, sus hábitos de higiene y alimentación, inclusive enfermedades inmunológicas y genéticas propias del individuo que lo hacen más susceptible a contraer algún tipo de estas micosis.

La principal micosis superficial benigna y crónica de distribución cosmopolita es la “Pitiriasis versicolor” que tiene como agente causal algunas especies del género *Malassezia*.

En la mayoría de los países de América Latina sucede lo mismo, pues poblaciones vulnerables contraen “Pitiriasis versicolor”, debido a que presentan los factores que favorecen a su contagio. Sin embargo, no es la única patología dermatológica que causa el género *Malassezia*, puesto que se ve implicado en otros cuadros clínicos, como dermatitis seborreica, psoriasis, postulosis neonatal, foliculitis, pitiriasis capitis o comúnmente llamada caspa, entre otras patologías (Torres et al., 2008) que serán descritas en los siguientes capítulos.

En el Perú, se han realizado estudios de prevalencia e incidencia de las patologías producidas por *Malassezia sp.*, mas no de cómo mejorar el tiempo de aislamiento. Al ser esta, una levadura que generalmente causa problemas estéticos, por otro lado, también puede ocasionar infecciones sistémicas en personas inmunodeficientes o inmunosuprimidas, llegándoles a causar la muerte. Radicando aquí la importancia de aislar dichas levaduras en un tiempo pertinente.

En un hospital pediátrico de Lima, en el laboratorio de micología, se analizan todos los días muestras de raspados e hisopados de piel, entre otras, propias de individuos con un diagnóstico presuntivo de dermatomicosis. Siendo *Malassezia sp.* una de las levaduras hallada con mayor frecuencia y puede diagnosticarse mediante un examen directo de raspado y/o impronta de piel coloreado con Azul de metileno al 1% (Colorante de Kane) vista al

microscopio o se realiza el diagnóstico diferencial mediante el cultivo de la muestra en el agar de Leeming y Notman Modificado suplementado con el aceite de oliva (*Olea europaea*). El tiempo de aislamiento de las especies del género *Malassezia* está comprendido entre siete días, un periodo de espera relativamente largo si se tratase de un paciente con fungemia, en estos casos lo que opta el médico es realizar un hemocultivo para detectar el microorganismo que produce esta condición grave para el paciente. Sin embargo, aislar *Malassezia sp.* en un hemocultivo es poco probable porque no contiene la fuente de ácidos grasos que requiere la levadura para su desarrollo. Así mismo, el laboratorio recepciona muestras tales como punta de catéter venoso central (CVC) para cultivo. Está demostrado que en pacientes portadores de catéter venoso central (CVC) que reciben emulsiones lipídicas por vía parenteral, *Malassezia sp.* puede ser el agente etiológico de una sepsis (Morros et al., 2002). Por lo tanto, se necesitan otras opciones de medios de cultivo que mejoren el aislamiento *Malassezia*. En ese sentido, este estudio formuló la siguiente pregunta de investigación:

### ***1.1.1 Pregunta general***

¿El aislamiento y número de colonias aisladas de *Malassezia spp.* estará asociado con el tipo de agar utilizado en hisopados de piel del Instituto Nacional de Salud del Niño durante Marzo - Noviembre del 2022?

### ***1.1.2 Preguntas específicas***

¿Cuáles son las características de las variables área de lesión y tipo de placa en hisopados de piel del Instituto Nacional de Salud del Niño durante Marzo-Noviembre del 2022?

¿Existirán diferencias significativas entre las variables aislamiento de hongos, número de colonias y día que se aisló *Malassezia sp.* del agar convencional con el agar nuevo en hisopados de piel del Instituto Nacional de Salud del Niño durante marzo-Noviembre del 2022?

## **1.2. Antecedentes**

### ***1.2.1 Antecedentes Nacionales***

Carrasco y Miranda (2021) tuvieron como objetivo demostrar la actividad sinérgica del extracto etanólico de *Piper aduncum* (mático) y aceite de *Cocos nucifera* frente a *Candida albicans* en su estudio de enfoque cuantitativo de diseño experimental. Obtuvieron ambos compuestos mediante maceración y prensado al frío respectivamente. Se prepararon concentraciones de ambos compuestos del 50%, 75% y 100%. Demostraron el efecto antimicótico por el método de Difusión en Pozo donde el extracto metanólico de *Piper aduncum* (mático) frente a *Candida albicans* obtuvo halos de inhibición promedio de 12.4mm + 0.06, 11.9mm + 0.06 y 10.3mm + 0.06 para las concentraciones del 100%, 75% y 50% respectivamente; el aceite de *Cocos nucifera* (coco) obtuvo halos de inhibición de 9.5mm + 0.06, 6.8mm + 0.05, y 6.0mm + 0.01 para las mismas concentraciones respectivamente y la combinación del extracto metanólico de matico y aceite de coco a las concentraciones del 50%, 75% y 100% obtuvo halos de inhibición de 9.9mm + 0.01, 11.2mm + 0.01 y 13.7mm + 0.01 respectivamente. Concluyeron que *Candida albicans* es sensible al extracto metanólico de matico en todas las concentraciones y no presenta sensibilidad a ninguna de las concentraciones del aceite de coco.

Sonco (2018), publicó “El efecto antifúngico del aceite esencial del *Cocos nucifera* sobre cepas de *Candida albicans*. Arequipa, 2018”, de tipo experimental, con diseño longitudinal, prospectivo y comparativo. Utilizó cepas de *Candida albicans* patrones que reunieron los criterios de inclusión y exclusión propuestos, reactivándose las cepas en 5 placas Petri rotuladas, las cuales contenían agar sabouraud; luego se disolvió el aceite esencial de *Cocos nucifera* (coco) con dimetil sulfoxido a las concentraciones de 25 % y 50 %, la concentración al 100 % fue recolectada directamente del frasco; para comprobar su efecto, se colocaron discos de cada concentración en cada placa y un disco prueba control de clorhexidina al 2 %. Finalmente se observaron los resultados a las 24, 48 y 72 horas y se anotaron en una ficha de observación laboratorial, de acuerdo a los protocolos establecidos. Se concluyó que el

aceite esencial de *Cocos nucifera* (coco) empleado para este estudio, a sus diferentes concentraciones evaluadas (25 %, 50 % y 100 %) no evidenciaron tener algún efecto antifúngico sobre las cepas de *Candida albicans* en ninguno de los tiempos evaluados, en tanto, nuestro control de clorhexidina al 2 % fue quien obtuvo eficacia antifúngica en los tiempos establecidos para el estudio.

Vásquez (2018), en su estudio “Efecto antibacteriano in vitro de aceite de *Cocos nucifera* sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175” (Trujillo), realizó la prueba de susceptibilidad, utilizando el método de difusión de discos ensayada sobre las concentraciones de 25%, 50% y 75% de aceite de *Cocos nucifera*. Todas las concentraciones presentaron halos de inhibición y los tamaños aumentaron directamente proporcional a las concentraciones utilizadas. Los resultados mostraron que la concentración al 75% del aceite de *Cocos nucifera* mostró el mayor halo de inhibición (22mm) y la concentración mínima inhibitoria fue la de 75% en donde no se visualizó crecimiento de colonias en todas las repeticiones de la muestra ensayada. Finalmente, se concluyó que el aceite de *Cocos nucifera* posee actividad antibacteriana in vitro sobre el crecimiento de cepas de *Streptococcus mutans*.

Escalante (2015), en “Determinación de la Sensibilidad de *Listeria monocytogenes* y *Listeria ivanovii* frente a diferentes concentraciones del aceite esencial de *Cocos nucifera*” (Trujillo), obtuvo el aceite por el método de destilación por arrastre con vapor de agua y empleó cultivos de *Listeria monocytogenes* y de *Listeria ivanovii*. La sensibilidad se determinó por el método de difusión en agar, utilizándose concentraciones de 20%, 40%, 60%, 80% y 100% del aceite; utilizando al sulfametoxazol/trimetroprin como antibiótico control. En cuanto a la preparación de los inóculos bacterianos; los cultivos de *Listeria monocytogenes* y *Listeria ivannovii* fueron reactivados en Caldo Frasier por 18 horas a 37 °C. Se tomaron una pequeña cantidad de colonias estandarizadas al tubo N° 0.5 del Nefelómetro de Mac Farland (1.5x10<sup>8</sup> ufc/mL). La actividad antibacteriana del aceite de *Cocos nucifera*, se determinó utilizando



técnica de difusión en agar en placas, por triplicado. Finalmente, se demostró que todas las cepas de *Listeria monocytogenes* y *Listeria ivannovii* presentaron sensibilidad frente a las cinco concentraciones empleadas del aceite esencial de *Cocos nucifera*.

Bejar et al. (2014) tuvieron como objetivo identificar las especies de *Malassezia* en zonas seborreicas de piel sana en población limeña (Perú). El diseño fue descriptivo transversal. Empleando la técnica de “Mariat y Adan-Campos” (Arenas, 2008, p. 41), recolectaron muestras de piel de 129 pobladores asintomáticos. El aislamiento de *Malassezia sp.* se realizó en medio Dixon modificado e incubado a 32°C por 7 días, se identificó las colonias por sus características macro y micromorfológicas, y la tipificación se realizó mediante el estudio de las propiedades bioquímicas y fisiológicas según la técnica de Guillot y cols. (1996). Como resultado se aisló *Malassezia spp.* en 43.4% de los pobladores, obteniéndose 49.2% en varones y 37.5% en mujeres. De las diferentes regiones corporales, 68 cultivos fueron positivos: cuero cabelludo 31 (45.6%), espalda 36 (52.9%) y región frontal 1 (1.5%). El grupo etario con mayor frecuencia de aislamientos (47.2%) fue el de 14 a 25 años (adolescentes jóvenes). *M. slooffiae* fue encontrado en 83.8% y *M. obtusa* en 16.2% de los casos.

Bejar et al. (2014), determinaron la evolución epidemiológica de las dermatomicosis en pacientes de consultorio externo durante el periodo 1976-2005, Lima –Perú. Para tal fin se revisaron 7 185 (55.3%) historias clínicas que fueron casos positivos a dermatomicosis. El diseño fue descriptivo, retrospectivo y analítico. El instrumento de investigación empleado fue la ficha de levantamiento de información. El estudio demostró que los más afectados fueron del grupo etario de 16 a 30 años (42.7 %) y sexo femenino (52.1 %). La dermatomicosis más frecuente fue la onicomycosis (43.6%). Los agentes patógenos de mayor prevalencia fueron *Trichophyton rubrum* (33.2 %), *Candida albicans* (15.3 %), *Candida no albicans* (11.8 %), *Trichophyton mentagrophytes* (9.4%), *Malassezia sp.* (9.1%) y las infecciones mixtas (7.2 %). Las micosis de cuero cabelludo muestran continuo aumento durante todo el estudio. A partir

de 1995 aumentó la prevalencia de *Candida no albicans* y se encontró como especie reemergente a *Candida tropicalis*. Concluyeron que entre los años 1976 y 2005 hubo importantes variaciones epidemiológicas en relación a las formas clínicas y a la etiología de las dermatomicosis.

### **1.2.2 Antecedentes Internacionales**

Dhanablan et al. (2022) cultivaron *Malassezia furfur* MTCC 1374 en diferentes medios de cultivo enriquecidos con cuatro sustratos: aceite de coco (MfCM), aceite de maíz (MfCcM), aceite de oliva (MfOM) y aceite de manteca (MfGM) y evaluaron parámetros de crecimiento tales como pH, temperatura y tiempo de incubación en días. Observaron que el aceite de manteca (MfGM) promovió un mejor crecimiento de *M. furfur* cuando se sometió a diferentes pH (4.0, 4.5, 5.0, 5.6 y 6), temperatura que varió de 20°C a 45°C y período de incubación del día 0 al día 20. Se encontró que el rango de parámetros óptimos que promueven el crecimiento erguido de *M. furfur* es la condición comparable al pH de la piel humana de 5,5-5,6 así como una temperatura de 36°C-37°C. Otros medios lipídicos también favorecieron un crecimiento regular con diferente fase estacionaria pero no hasta el nivel de MfGM.

Vaishali y Nayan (2018) en India, utilizaron 12 hisopados de cuero cabelludo, con el objetivo principal de aislar especies de *Malassezia* que producen caspa, en los medios de cultivo agar sabouraud dextrosa, agar papa dextrosa (ambos suplementados con aceite de coco) y el medio de cultivo Dixon modificado suplementado con aceite de oliva, luego realizaron las pruebas bioquímicas y se enfrentaron 20 extractos de plantas contra las especies de *Malassezia* aisladas para evaluar la susceptibilidad antifúngica. Observaron que el mejor medio de aislamiento en este estudio fue el medio de cultivo Dixon modificado suplementado con aceite de oliva y finalmente se concluyó que *Malassezia sp.* es más susceptible a los extractos de *E. officinalis* y *A. coccinna*, pues estos inhiben el crecimiento de la levadura en el agar. que otras especies de plantas.

Manna et al. (2015), en India, investigaron sobre el crecimiento y las características fisiológicas de *Malassezia furfur* en medio de agar de leche de coco desarrollado en forma autóctona con el objetivo de compararlo con el agar de Dixon modificado en términos de formación de colonias e idoneidad para evaluar el crecimiento y las diferentes propiedades fisiológicas de *Malassezia sp.* A parte realizaron las respectivas pruebas bioquímicas. Finalmente concluyeron que el agar de leche de coco es una mejor alternativa para el cultivo de *M. furfur*, pues se observó crecimiento de *Malassezia sp.* a los dos días en comparación al agar de Dixon modificado, en el cual se observó el crecimiento a los 7 días.

Sudarsan et al. (2015) en Reino Unido, con el fin de determinar el efecto fungicida de las nanopartículas de azufre sobre especies de *Malassezia*, aisladas en medios de cultivos suplementados con aceite de mantquilla, aceite de almendras y aceite de coco; observaron que la mantquilla fue la mejor fuente de lípidos demostrando el crecimiento de *Malassezia sp.* en 4 días, tiempo menor con respecto al crecimiento observado en los otros medios suplementados con aceite de almendras y aceite de coco; concluyeron también que las nanopartículas de azufre son buenos agentes anticasca potencial, no tóxicas para el tratamiento de la caspa en el futuro.

### **1.3. Objetivos**

#### ***1.3.1. Objetivo general***

Determinar si el aislamiento y número de colonias aisladas de *Malassezia spp.* estará asociado con el tipo de agar utilizado en hisopados de piel del Instituto Nacional de Salud del Niño durante Marzo-Noviembre del 2022.

#### ***1.3.2. Objetivos específicos***

Describir las variables área de la lesión y tipo de placa de piel en hisopados de piel del Instituto Nacional de Salud del Niño durante Marzo-Noviembre del 2022.

Comparar las variables aislamiento de hongos, número de colonias, y día en que se aisló *Malassezia sp.* del agar convencional con en el agar nuevo en hisopados de piel del Instituto Nacional de Salud del Niño durante Marzo-Noviembre del 2022.

#### 1.4. Justificación

*Malassezia sp.* es parte de la flora normal de la piel, pero puede convertirse en un patógeno oportunista que produce una serie de cuadros clínicos dermatológicos e incluso fungemia en personas inmunocomprometidas y en aquellos pacientes que reciben alimentación lipídica a través de catéter venoso central.

Su aislamiento en hemocultivos es deficiente, pues estos carecen de los ácidos grasos que necesita dicha levadura para su desarrollo. Por ese motivo, si no se utilizan los medios de cultivo adecuados para aislarla, el laboratorio demoraría en emitir un resultado. Esto conllevaría a alargar el tiempo de espera para un diagnóstico oportuno.

Actualmente, el medio de cultivo tradicional utilizado es el agar Leeming y Notman modificado, este contiene una fuente lipídica, la cual es el aceite de oliva (*Olea europaea*), que favorece su crecimiento. Sin embargo, en este medio, *Malassezia sp.* demora en desarrollarse 7 días a 32°C (Bejar et al., 2014).

Entonces, para acortar o mejorar este tiempo de aislamiento, la presente tesis propone modificar el medio de cultivo Leeming y Notman modificado, el cual contendrá una nueva fuente lipídica. Esta es el aceite de coco (*Cocos nucifera*) que en comparación con el aceite de oliva (*Olea europaea*) tiene propiedades antimicrobianas y antifúngicas, que haría que sea más selectivo para el crecimiento de este hongo específico. Además, posee una mayor concentración de ácidos grasos necesarios para el desarrollo de la levadura, que, de igual manera, ayudaría a reducir el tiempo de aislamiento. Adicionalmente, el costo de esta nueva fuente de lípidos es más económica en comparación con el aceite de oliva. Esto generaría que

este nuevo medio de cultivo pueda ser más accesible para los laboratorios que deseen implementarlo.

De igual manera hay una justificación investigativa pues los resultados obtenidos servirán para realizarse nuevos estudios, con nuevas variables que en este estudio no se han considerado. Servirá como antecedente para futuros trabajos de investigación.

### **1.5. Hipótesis**

El aislamiento y número de colonias aisladas de *Malassezia sp.* sí están asociados con el tipo de agar utilizado en hisopados de piel del Instituto Nacional de Salud del Niño durante Marzo-Noviembre del 2022.

El aislamiento y número de colonias aisladas de *Malassezia sp.* no están asociados con el tipo de agar utilizado en hisopados de piel del Instituto Nacional de Salud del Niño durante Marzo-Noviembre del 2022.

## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1. Bases teóricas sobre el tema de investigación

#### 2.1.1 *Malassezia*

Género de hongos conformado actualmente por diecisiete especies de levaduras lipofílicas y se encuentra como flora normal de la piel en humanos y algunos animales de sangre caliente.

**2.1.1.2 Taxonomía.** “Las levaduras del género *Malassezia* se clasifican dentro de la subclase *Ustilaginomycetes* en el orden de *Malasseziales* y phylum *Basidiomycota*” (Giusiano, 2006, p. 42; Erchiga et al., 2008, p. 1; Salah, 2010, p. 54 citados en Damme, 2014, p. 3).

#### 2.1.1.3 Características

**A. Ultraestructura.** La pared celular de *Malassezia sp.* comprende el 15% de toda su estructura (0.12 um de grosor) y está formada por una lamela externa, una pared multicapa y una membrana plasmática con ondulaciones. Su membrana presenta hendiduras, así como también presenta una mayor cantidad de lípidos a diferencia de otros géneros, se menciona en la literatura que ambas estructuras podrían conferirle a la levadura resistencia a fenómenos externos, como cambios osmóticos o fuerzas mecánicas. Por otra parte, los lípidos de la pared celular podrían ser un factor de virulencia, protegiendo las células de la fagocitosis y regulando la respuesta inmune del huésped.

Asimismo, es característico del género que, durante el proceso de gemación, la célula hija surge de la capa más interna de la pared celular, dejando una cicatriz en forma de collar en la célula madre después de su liberación. Esta cicatriz visible aumenta progresivamente de tamaño en las sucesivas gemaciones. (Piug, 2017, p. 4)

**B. Morfología.** Las levaduras del género *Malassezia* son subglobosas, ovales o cilíndricas, se reproducen por brotación monopolar dejando en la célula madre una cicatriz prominente. (Giusiano, 2006, p. 42).

Desde el punto de vista macroscópico, presentan colonias medianas, por lo general lisas o ligeramente rugosas, planas, de textura cremosa y de color crema, brillantes u opacas, con borde liso (Damme, 2014, p. 4).

**C. Lipodependencia.** La principal característica fisiológica es la lipodependencia, la razón es que presentan un defecto en la capacidad de sintetizar ácidos grasos saturados de cadena mediana y larga (C12- C16), por lo que es necesaria una fuente exógena de esos ácidos grasos para su desarrollo (Giusiano, 2006, p. 42). Antiguamente se consideraba que *Malassezia pachydermatis* era la única especie de este género que no necesitaba ácidos grasos para su desarrollo, sin embargo, Piug (2017, p.7) en su estudio menciona que:

“Recientemente se demostró por métodos moleculares que *M. pachydermatis* no posee el gen codificante para una enzima sintasa de ácidos grasos. Consecuentemente, se ha sugerido que esta especie también requiere el aporte de lípidos, como los ácidos grasos proporcionados por los componentes de medios complejos como el agar sabouraud glucosa”.

Del mismo modo Piug refiere que: “A nivel genómico, se comprobó la ausencia del gen codificante para una sintasa de ácidos grasos en todas las especies del género *Malassezia*. Esta deficiencia, es compensada por una abundancia de genes codificantes para hidrolasas, de modo que las levaduras son capaces de hidrolizar los lípidos de su entorno para obtener ácidos grasos. En cultivo, estos lípidos son proporcionados por los medios específicos como el agar Dixon o el LNA.”

**D. Reproducción.** La gemación de *Malassezia* es monopolar, blástica y percurrente. Las células hijas brotan de la capa más interna de la pared celular dejando una cicatriz en forma

de collar en la célula madre cuando estas se desprenden por formación de un septo con posterior fisión.

Hasta el momento no se ha observado el ciclo sexual. Sin embargo, en estudios genómicos, se han detectado genes MAT que están relacionados con la reproducción sexual. La presencia de dicho ciclo podría ser un aspecto clave respecto a la virulencia de estas levaduras, ya que la variabilidad genética adquirida mediante recombinación podría facilitar la distribución de cepas patógenas. (Puig, 2017, p. 8)

#### **2.1.1.4 Diagnóstico**

**A. Examen directo.** *Malassezia spp.* tiene una morfología peculiar que lo hace reconocible pues sus fases: levaduriforme y/o micelial son fácilmente observables en el examen directo con hidróxido de potasio, con tinta Parker (Quink) azul negro permanente, solución de Albert o azul de metileno (1%), o en preparaciones histológicas coloreadas con ácido peryódico de Schiff o blanco de Calcofluor (método más selectivo). En la PV es diagnosticada también por la observación de las lesiones bajo la lámpara de Wood, estas fluorescen con un característico color oro o amarillo vivo. Sin embargo, es importante considerar que este examen es positivo en 1/3 de los casos, limitando el uso de esta técnica como único medio diagnóstico. (Giusiano, 2006, p. 44)

**B. Aislamiento e identificación.** Para el aislamiento de la levadura se utiliza mDA y/o Sabouraud suplementado con ácidos grasos de cadenas largas o el medio Leeming y Notman, se incuba a 32°C durante un tiempo promedio de 7 días; para la identificación de especie se utilizan las pruebas de catalasa, actividad  $\beta$ - glucosidasa, determinación de metabolismo en lípidos Tween 20, 40, 60, 80 y Cremophor EL (Erchiga et al., 2008, p. 571 citado por Damme, 2014, p. 4). Por otro lado Giusiano (2006) menciona que medios suplementados como el agar Sabouraud con aceite de oliva, han sido utilizados en el pasado porque tienen poco rendimiento, pues algunas especies no desarrollan o tienen una sobrevivencia corta en este medio. Sin embargo,



en la literatura se menciona que *M. pachydermatis* es la única especie capaz de crecer en un medio de cultivo microbiológico de rutina, aunque en el crecimiento “*in vitro*” mejoró por la adición de lípidos en el medio. (Garau et al., 2005, p.17)

En la actualidad, el desarrollo de las técnicas moleculares como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) han ayudado a resolver las desventajas de los métodos convencionales, aunque estos últimos aún se aplican en laboratorios que no tienen acceso a una tecnología más compleja, por ello aún se busca un método certero, reproducible, simple y de bajo costo que permita la diferenciación genotípica de todas las especies hoy conocidas. (Giusiano, 2006, p. 45)

**B.1 Medios y condiciones de cultivo.** Para el aislamiento de estas levaduras a partir de la piel o conducto auditivo externo, se suelen obtener muestras con hisopos o apósitos adhesivos. Estas se inoculan en medios de cultivo específicos, como mDA o LNA, y se incuban a 32°C por dos semanas. Si hay crecimiento de colonias de morfología compatible con *Malassezia*, se puede proseguir con su identificación a nivel de especie mediante distintas pruebas. (Piug, 2017, p. 15)

## **B.2 Pruebas bioquímicas y fisiológicas**

**a. Actividad catalasa.** La actividad de la enzima catalasa se determina poniendo en contacto una gota de peróxido de hidrógeno con una colonia de levadura, en un portaobjetos. La enzima descompone el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno, que se observa en forma de efervescencia.

**b. Crecimiento a diferentes temperaturas.** Se inoculan por agotamiento las cepas de estudio en placas con medio mDA o LNA y se incuban a 32°C (temperatura óptima para el crecimiento de las levaduras de *Malassezia*), sin embargo *M. pachydermatis* presenta mejor crecimiento a 37°C. (Piug, 2017, p. 15)

**c. Actividad  $\beta$ -glucosidasa.** Algunas especies de *Malassezia* poseen el enzima  $\beta$ -glucosidasa, que hidroliza el enlace glucosídico de la esculina, liberando glucosa y esculetina. Para valorar la presencia de dicha enzima, se inoculan las levaduras en picadura en agar esculina en tubo, y se incuban a 32 °C hasta cinco días. La reacción positiva se observa por un ennegrecimiento del medio, debido a la reacción del grupo fenólico de la esculetina con el hierro del medio". (Piug, 2017, p. 16)

**d. Test de difusión de Tweens y Cremophor EL.** En este test se realiza una siembra por inclusión de las levaduras en SGA y cuando el medio está solidificado, se rellena con Tween 20, 40, 60, 80 o Cremophor los cinco pocillos. Las placas se incuban a 32°C y se observan los patrones de crecimiento cada 24 horas durante diez días. Mediante esta prueba, se pueden observar distintos patrones de asimilación de estos componentes, que pueden variar desde la presencia de crecimiento hasta su inhibición completa.

#### **2.1.1.5 Especies**

El género *Malassezia* incluye en la actualidad 17 especies de levaduras lipófilas. Se observa en la *Tabla 1*.

**Tabla 1.**Especies de *Malassezia* descritas y huéspedes habituales

Especies	Principales huéspedes / otros
<i>M. pachydermatis</i> (Weidman) Dodge 1925	Perro, gato / carnívoros, aves
<i>M. furfur</i> (Robin) Baillon 1889	Hombre / vaca, elefante, cerdo, mono, aves
<i>M. sympodialis</i> Simmons & Guého, 1990	Hombre / caballo, cerdo, oveja
<i>M. globosa</i> Guého et al., 1996	Hombre / leopardo, vaca
<i>M. obtusa</i> Guého et al., 1996	Hombre
<i>M. restricta</i> Guého et al., 1996	Hombre
<i>M. slooffiae</i> Guého et al., 1996	Hombre, cerdo / cabra, oveja
<i>M. dermatis</i> Sugita et al., 2002	Hombre
<i>M. japonica</i> Sugita et al., 2003	Hombre
<i>M. nana</i> Hirai et al., 2004	Gato, vaca / perro
<i>M. yamatoensis</i> Sugita et al., 2004	Hombre
<i>M. caprae</i> Cabañes et al., 2007	Cabra / caballo
<i>M. equina</i> Cabañes et al., 2007	Caballo / vaca
<i>M. cuniculi</i> Cabañes et al., 2011	Conejo
<i>M. psittaci</i> Cabañes et al., 2016	Loro
<i>M. brasiliensis</i> Cabañes et al., 2016	Loro
<i>M. arunalokei</i> Honnavar et al., 2016	Hombre

Nota. Estas especies fueron confirmadas por secuenciación de rRNA. Tomado de Estudio fenotípico y molecular de *Malassezia pachydermatis* y *Malassezia furfur* aisladas de animales, por Puig (2017, p. 12).

### 2.1.1.6 Infecciones causadas por el género *Malassezia*

“*Malassezia sp.* es un hongo dimórfico lipofílico que forma parte de la microbiota cutánea del humano y de otros mamíferos. Es el agente causal de la Pitiriasis versicolor y se ha relacionado con varias dermatosis, como foliculitis, dermatitis seborreica, papilomatosis reticulada, dermatitis atópica, psoriasis y pustulosis neonatal; también se ha asociado con otras enfermedades, como dacriocistitis, sinusitis, otitis externa, neumonía intersticial, vasculitis pulmonar, peritonitis y septicemia” (Douriet y Padilla, 2016, p. 220). De igual manera, Giusiano (2016, p. 43) menciona en su estudio que: “Debido a su carácter lipofílico, la mayoría de estas levaduras se encuentran como comensales en áreas del cuerpo con glándulas sebáceas; bajo la influencia de ciertos factores, endógenos o exógenos, pueden volverse patógenas. *Malassezia sp.* puede causar o estar asociado a determinados desórdenes dermatológicos, tanto en humanos como en animales. En sujetos con condiciones predisponentes pueden causar infecciones sistémicas”.

En 1981 se publicó el primer caso de fungemia en un recién nacido que recibía nutrición lipídica parenteral, por lo tanto no debemos obviar que se presenten casos similares en la actualidad. Es por esta razón que es esencial considerar la posibilidad de una infección sistémica causada por este agente que no desarrolla en los medios comunes para aislamiento. Su aislamiento es necesario para el desarrollo de una conducta terapéutica apropiada.

Según Torres et al., (2008) en su estudio describe las afecciones relacionadas con *Malassezia sp.*:

**a. *Pitiriasis versicolor*.** Se manifiesta por máculas o placas de color variable como marrón claro, pardas o rosadas, aunque casi siempre adquiere un color blanco. La superficie de las lesiones está cubierta por escamas pitiriasiformes. Estas causan escozor algunas veces. La distribución de las lesiones es paralela a la distribución en densidad de las glándulas sebáceas. “La topografía más frecuente en la infancia es la cara en su variedad hipocrómica, mucho más común que en adultos; y de ésta se afectan frecuentemente la frente, las mejillas, región interciliar, preauricular, perioral y surcos nasogenianos con máculas hipocrómicas”. (Torres et al., 2008, p. 271)

**b. *Foliculitis*.** La foliculitis por *Malassezia sp.* es una afección benigna, caracterizada por el crecimiento de esta levadura en el folículo, además esto causa un proceso inflamatorio que podría deberse a la producción de metabolitos propios del hongo o a la liberación de ácidos grasos como resultado de su actividad enzimática. Cabe resaltar que la foliculitis por *Malassezia sp.* se localiza por lo general en espalda y parte anterior del tórax causando prurito en todos los casos, a diferencia de la foliculitis por *Candida* que se presenta frecuentemente en piel cabelluda, cuello, barba, pubis, axilas y tórax y casi siempre es ligeramente dolorosa.

**c. *Dermatitis seborreica y Pitiriasis capitis*.** La dermatitis seborreica es un proceso crónico inflamatorio, eritematoso y descamativo, acompañado de una secreción elevada de sebo. Algunos autores niegan la participación de *Malassezia sp.* en esta afección, por otro lado, otros autores afirman que es el agente causal.

La *Pitiriasis capitis* o caspa es caracterizada por la descamación excesiva, no inflamatoria de la piel cabelluda que se distingue por la presencia de escama fina y fácilmente desprendible o gruesa y adherente, que se asienta sobre piel ligera o moderadamente eritematosa, con prurito de intensidad variable. Algunos dermatólogos consideran a estos dos procesos como enfermedades distintas, mientras que otros opinan que la caspa es una forma leve de dermatitis seborreica.

**d. Papilomatosis confluyente y reticulada de Gougerot y Carteaud.** Enfermedad poco frecuente, predominante en mujeres adolescentes o jóvenes. La etiología es desconocida, por ende, es posible que esta afección sea multicausal y que las levaduras de *Malassezia* estén involucradas. Clínicamente los pacientes presentan una dermatosis localizada en el tronco y cuello principalmente. Las lesiones tienen aspecto aterciopelado y pigmentado, verrugoso en el centro y reticuladas en la periferia, son pápulas parduscas queratósicas que aumentan progresivamente en número y tamaño.

**e. Pustulosis neonatal.** El incremento de la secreción de las glándulas sebáceas durante el primer mes de vida podría favorecer y provocar la erupción, que frecuentemente es confundida con acné neonatal; sin embargo, esta afección, se distingue clínicamente por la presencia de pápulas y pústulas no foliculares en cara, cuero cabelludo y cuello.

**f. Dermatitis atópica y psoriasis.** La dermatitis atópica es un padecimiento de base genética, crónico y recurrente de la piel que se caracteriza por manifestar una reactividad muy alta de la piel a estímulos físicos e irritantes directos. Poco se conoce sobre el papel real de *Malassezia sp.*, sin embargo, el mejoramiento de los pacientes con tratamientos antifúngicos hace pensar en estos hongos como importantes alérgenos que provocan la reacción cutánea.

**g. Onicomycosis.** Esta levadura se ha encontrado en ocasiones asociada a *Candida albicans* y *T. rubrum*; aún no está demostrado si actúa como patógeno o un colonizador secundario. La infección se presenta con queratosis subungueal, xantoniquia y/u onicólisis.

**h. Dacriocistitis.** En esta entidad se encuentra obstrucción del saco lagrimal, con eritema, inflamación y lagrimeo.

**i. Infecciones sistémicas por *Malassezia sp.*** Se consideran patógenos emergentes pues pueden causar sepsis en población pediátrica conformada por niños prematuros de bajo peso que reciben emulsiones lipídicas a través de CVC, al igual que pacientes inmunodeprimidos quienes permanecen internados durante periodos prolongados, favoreciéndose la colonización

y su posterior contaminación por medio de la manipulación. Es necesario recalcar que la infección sistémica es la menos frecuente provocada por estos hongos, pero es la más importante debido al alto porcentaje de mortalidad. (Harrison et al., 2022)

### **2.1.2 Agar Leeming y Notman modificado (mLNA)**

Es un medio de cultivo utilizado ampliamente para cultivar hongos lipofílicos pertenecientes al género *Malassezia*. (Jourdain et al., 2023)

### **2.1.3 Cocos nucifera**

Cocos nucífera es una fruta que crece en las costas de todos los países tropicales y subtropicales, aunque se encuentra más distribuido de África, el Caribe y América del Sur (Sánchez y Ríos, 2002, p. 40 citado en Rossi, 2019, p. 14).

#### **2.1.3.1 Composición**

Su principal componente son los ácidos grasos saturados, es por esta razón que presenta un elevado valor energético en comparación con otras frutas. Está compuesto también por fósforo, magnesio, potasio y en otros de sus componentes destaca la vitamina E y la fibra; no obstante, el coco aporta una mínima cantidad de carbohidratos y proteínas. (Rossi, 2019, p. 15)

Del coco se obtienen muchos productos, destacando entre ellos:

**A. Aceite de coco:** extraído de la copra (parte comestible), compuesto por el 90% de ácidos grasos saturados dentro de los cuales destacan el ácido caprílico, láurico, mirístico y palmítico; el restante 10% es de ácidos grasos no saturados, por estos últimos es resistente a la ranciedad. Su composición de ácidos grasos se muestra en la *Tabla 2*.

#### **Tabla 2.**

Composición de ácidos grasos del aceite de coco

Ácidos grasos saturados	%	Ácidos grasos insaturados	%
-------------------------	---	---------------------------	---

Caprílico	8.34		
Cáprico	7.19		
Laúrico	47.31	Oleico	6.24
Mirístico	17.0	Linoleico	7.19
Palmítico	8.85		
Esteárico	2.27		
Total	90.96	Total	13.43

Nota. Tomado de Efecto cicatrizante del aceite de Cocos Nucífera L. Coco en heridas de animales de experimentación por Rossi (2019).

Haciendo hincapié en la diferencia que existe entre el aceite de coco y el aceite de oliva, es que el primero contiene mayor cantidad de ácido láurico (C12:0) y mirístico (C14:0) mientras que el último es rico en ácido oleico (C18:0) y palmítico (C16:0). (Ros et al., 2015, p. 440-442).

La *Figura 1*. Nos muestra las diferentes cantidades de ácidos grasos que contienen principalmente el aceite de coco y el aceite de oliva.



Figura 1

Composición de ácidos grasos de varias grasas y aceites comestibles

**Composición de ácidos grasos de varias grasas y aceites comestibles.**

Porcentaje de peso total de ácidos grasos.

Aceite o Grasa	Proporción Insat./Sat.	Saturada					Mono-insaturada	Poli-insaturada	
		Ácido Cáprico C10:0	Ácido Láurico C12:0	Ácido Mirístico C14:0	Ácido Palmítico C16:0	Ácido Esteárico C18:0	Ácido Oleico C18:1	Ácido Linoleico (ω6) C18:2	Ácido Alfa-Linolénico (ω3) C18:3
Aceite de almendra	9.7	-	-	-	7	2	69	17	-
Sebo vacuno	0.9	-	-	3	24	19	43	3	1
Mantequilla (vacuna)	0.5	3	3	11	27	12	29	2	1
Grasa de leche (cabra)	0.5	7	3	9	25	12	27	3	1
Grasa de leche (humana)	1.0	2	5	8	25	8	35	9	1
Aceite de canola	15.7	-	-	-	4	2	62	22	10
Mantequilla de cacao	0.6	-	-	-	25	38	32	3	-
Aceite de hígado de bacalao	2.9	-	-	8	17	-	22	5	-
Aceite de coco	0.1	6	47	18	9	3	6	2	-
Aceite de maíz	6.7	-	-	-	11	2	28	58	1
Aceite de algodón	2.8	-	-	1	22	3	19	54	1
Aceite de linaza	9.0	-	-	-	3	7	21	16	53
Aceite de semillas de uva	7.3	-	-	-	8	4	15	73	-
Manteca de cerdo	1.2	-	-	2	26	14	44	10	-
Aceite de oliva	4.6	-	-	-	13	3	71	10	1
Aceite de palma	1.0	-	-	1	45	4	40	10	-
Oleína de palma	1.3	-	-	1	37	4	46	11	-
Aceite de palmiste	0.2	4	48	16	8	3	15	2	-
Aceite de cacahuete	4.0	-	-	-	11	2	48	32	-
Aceite de cártamo*	10.1	-	-	-	7	2	13	78	-
Aceite de sésamo	6.6	-	-	-	9	4	41	45	-
Aceite de soja	5.7	-	-	-	11	4	24	54	7
Aceite de girasol*	7.3	-	-	-	7	5	19	68	1
Aceite de nuez	5.3	-	-	-	11	5	28	51	5

Nota. Tomado de Tabla de composición de ácidos grasos. Hidalgo (2018) Fuente:

<https://hidalgotomasth.files.wordpress.com/2014/09/aceite-tablas-composicion-acidosgrasos.pdf>

### III. MÉTODO

#### 3.1. Tipo de investigación

Estudio comparativo, observacional de corte longitudinal debido a que se comparó el medio de cultivo Leeming y Notman modificado con el medio de cultivo Leeming suplementado con aceite de coco, fue observacional y longitudinal pues se hizo un seguimiento diario a ambos medios de cultivo para observar si hubo o no desarrollo de las colonias de *Malassezia sp.*

#### 3.2. Ámbito temporal y espacial

##### 3.2.1 Delimitación temporal

Esta investigación inició en Marzo del 2022 y concluyó en Noviembre del mismo año.

##### 3.2.2 Delimitación espacial.

La información de esta investigación fue obtenida en el Laboratorio Central, Servicio de Microbiología, del Instituto Nacional de Salud del Niño sede Breña.

#### 3.3. Variables

##### 3.3.1 Variable dependiente

Aislamiento de *Malassezia sp.*

Número de colonias de *Malassezia sp.*

##### 3.3.2 Variable independiente

Agar Leeming y Notman suplementado con el aceite de *Cocos nucifera*. Observar a continuación el siguiente cuadro: Operacionalización de variables.

VARIABLES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADORES
Variable independiente:	Según F. Javier Cabañes (2019) el Agar Leeming y Notman es un medio de cultivo enriquecido con componentes lipídicos.  El aceite de Cocos nucifera es un aceite vegetal que se extrae de la copra del coco y está compuesto por ácidos grasos de cadena media, en su mayoría por ácido láurico.	Se evaluará la utilidad del medio de cultivo propuesto.	Cantidad del aceite en el medio de cultivo.	-Volumen (ml)
Agar Leeming y Notman suplementado con el aceite de Cocos nucifera.			-Utilidad del medio	-Desarrollo de colonias de <i>Malassezia</i> spp.
Variable dependiente:	Es el tiempo que demora en desarrollar (crecer) la colonia de <i>Malassezia</i> spp. en el medio de cultivo.	Los fenómenos observables serán descritos en la ficha de recolección de datos.	-Crecimiento de la colonia en el medio	-Días
Aislamiento de <i>Malassezia</i> spp.			-Fenotipo de la colonia	-Diámetro -Color -Aspecto
Número de colonias aisladas de <i>Malassezia</i> spp.			Son aquellos rasgos físicos observables que se pueden describir y cuantificar tomando en cuenta la morfología de la colonia.	

La Matriz de consistencia puede ser vista en el Anexo A.

### 3.4. Población y muestra

#### 3.4.1 Población

La población estuvo conformada por todos los hisopados de piel provenientes del servicio de microbiología del Instituto Nacional de Salud del Niño de Breña durante los meses de Marzo a Noviembre del 2022.

#### 3.4.2 Muestra

Dado que es el primer estudio que propone esta nueva fuente lipídica (no existen antecedentes en el país), para el cálculo de tamaño de muestra, primero, se realizó una prueba piloto con 50 muestras (25 hisopados de piel dirigidos hacia el agar convencional y 25 para el agar nuevo) debido a referencias que recomiendan entre 30 a 50 muestras para un piloto (Díaz, 2020; Mora et al., 2015). Los resultados de esta prueba piloto fueron que se obtuvo una frecuencia de crecimiento de *Malassezia sp.* en el agar convencional del 24.3% y en el nuevo medio de cultivo de 44%. Con estos datos se procedió a calcular el tamaño muestral en base a la comparación de dos proporciones independientes (debido a que el objetivo principal fue comparar este un nuevo medio de cultivo vs. el convencional) bajo un nivel de confianza del 95%: La proporción de cepas de *Malassezia sp.* aisladas en el agar convencional (24.3%) vs. la proporción de cepas de *Malassezia sp.* aisladas en el agar nuevo (44%) generó un tamaño de muestra de 180 (90 hisopados de piel dirigidos hacia el agar convencional y 90 para el agar nuevo). Este cálculo mediante el software se encuentra en el Anexo B, y de forma manual (que es el mismo resultado, dado que el software utiliza esta misma fórmula) se muestra a continuación:

$$n_1 = n_2 = \frac{[Z_{1-\alpha/2} * \sqrt{2p(1-p)} + Z_{1-\beta} * \sqrt{p_A(1-p_A) + p_B(1-p_B)}]^2}{(p_A - p_B)^2} = 90 \times 2 = 180$$

$$Z_{1-\alpha/2} : 1.96$$

$$Z_{1-\beta} : 0.84$$

$p: (P_a + P_b) / 2$

$P_a$  y  $P_b$ : Proporciones esperadas de A (frecuencia de crecimiento de *Malassezia sp.* en el agar convencional: 24.3%) y B (frecuencia de crecimiento de *Malassezia sp.* en el nuevo medio de cultivo: 44%), respectivamente. Proporciones provistas por la prueba piloto.

Posterior a ello, se aplicó un muestreo aleatorio simple a partir de la población de estudio (Anexo B). Para el cálculo de muestra y muestreo se utilizó el software Epidat versión 4.2.

#### CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Hisopados de lesión representativa piel de pacientes entre los 0 - 17 años.

#### CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Hisopados de piel provenientes de pacientes hospitalizados.
- Pacientes que se aplicaron alguna pomada, crema, shampoo medicado o que hayan recibido tratamiento antifúngico y antibacteriano en los últimos 7 días.

### 3.5. Instrumento

Se utilizó una ficha de recolección de datos hecha por la autora, no fue necesario una validación, pues este instrumento se realizó para ordenar la información (Anexo C).

### 3.6. Procedimientos

#### 3.6.1 Procedimientos previos a la recolección de los datos:

Se presentó el proyecto de investigación a la Unidad de Diseño y Elaboración de Proyectos de Investigación de la OEAIDE (Oficina Ejecutiva de Apoyo a la Investigación y Docencia Especializada), del INSN sede Breña, seguidamente asignaron un revisor para verificar que se cumplan todos los criterios de redacción y ética de la institución. Una vez finalizado el levantamiento de observaciones, el presente proyecto de investigación fue aprobado por el comité de ética. (Anexo D).

Una vez obtenido el permiso por la Jefa del Servicio de Microbiología, en el laboratorio se inició con la preparación de los medios de cultivo. Todos los insumos detallados en el Anexo E se pesaron en una balanza, luego se colocaron y se mezclaron todos los componentes en un recipiente con agua destilada a fuego lento hasta disolver. Seguidamente se procedió a hervir y envasar la mezcla en botellas de litro para esterilizar el medio en el autoclave por 15 minutos a 121 °C. Finalmente se dejó enfriar a temperatura ambiente los frascos para poder dispensar el medio de cultivo en 90 placas Petri para cada tipo de agar, en total 180 placas que servirán para la siembra de los hisopados de piel. (Anexo F)

La preparación de ambos agares fue realizado por la autora de este estudio y el asesor en el servicio de microbiología del hospital en referencia.

### **3.6.2 Toma de muestra**

Implica la toma de muestra por el tecnólogo médico a cargo. Para esta sección el familiar o apoderado del paciente se acercó al Servicio de Microbiología con una solicitud de toma de muestra emitida por el médico tratante, para la detección de hongos por el examen directo o cultivo para hongos, o ambos. Seguidamente se informó al tecnólogo médico a cargo para que tome la muestra al paciente mediante el frotamiento de dos hisopos juntos en el área afectada, el raspado y finalmente la impronta para el examen directo. Todo este procedimiento forma parte de la rutina del laboratorio de micología. La investigadora de este proyecto solo observó la toma de muestra y el área de lesión.

### **3.6.3 Observación de examen directo y sembrado de muestra**

En primer lugar, en el laboratorio se registró los datos del paciente en el cuaderno de Micología y se asignó la codificación correlativa correspondiente tanto a la ficha como a las muestras. Luego se procedió a colorear la impronta con 3 gotitas de Colorante de Kane. Seguidamente se realizó la lectura de la lámina en el microscopio en la cual se buscaron estructuras micóticas.

En segundo lugar, del almacén de agares en refrigeración se extrajo un agar convencional y el nuevo agar con aceite de coco para atemperarlo por 10 minutos en el mismo ambiente de laboratorio. Ambos medios de cultivo fueron rotulados con la codificación asignada. Una vez atemperados ambos medios, se continuó con la técnica de “sembrado” propiamente en ambos agares. Esta técnica de siembra consistió en frotar el hisopo que contiene escamas de piel afectada, en toda la superficie del agar, de manera horizontal, vertical y diagonalmente, evitando dejar espacios de la superficie del agar sin sembrar. Luego de realizar este proceso en un solo agar, este hisopo se descartó tomando en cuenta las condiciones de bioseguridad del laboratorio. Finalmente, cada agar fue incubado en una estufa a 32°C durante 7 días.

#### **3.6.4 Determinación del aislamiento y número de colonias aisladas de *Malassezia sp.***

El seguimiento se hizo diariamente (en la mañana), comenzando a las 24 horas (día 1) hasta el día 7, posterior a la siembra de cada muestra. Toda la información seleccionada para esta sección se puede observar en la ficha de recolección de datos.

La determinación del aislamiento de *Malassezia sp.* (primera variable dependiente) se hizo siguiendo las pautas de seguimiento mencionadas anteriormente. Se observó directamente si hay crecimiento de alguna masa de células independientes de otras en el agar (colonias).

Luego, se verificó si alguna de estas colonias es *Malassezia sp.* (indiferentemente de la especie), esto al observar las características cualitativas (tamaño, aspecto y forma) y se aplicó el método de examen directo con azul de Lactofenol, en donde se observó las estructuras propias de *Malassezia sp.* Seguidamente se anotó el día de seguimiento en el que se determinó (ficha de recolección de datos). Se consideró solo este día donde ocurrió el primer aislamiento como data que fue utilizada para el análisis estadístico de tipo descriptivo y analítico.

Finalmente, también se procedió a identificar la especie mediante la observación de características cualitativas (tamaño, aspecto y forma) y aplicación de las diferentes pruebas bioquímicas (prueba de catalasa, hidrólisis de bilis esculina y asimilación de los tween 20, 40, 60, 80). Sin embargo, esto último será información para otra variable (Tipo de *Malassezia* aislada). Así mismo se utilizó como ayuda diagnóstica y confirmación el equipo automatizado VITEK 2.0 y el agar cromogénico especialmente para el aislamiento de *Malassezia sp.* En una ocasión se entregó al Instituto Nacional de Salud cepas de *Malassezia furfur* aisladas en el Servicio para la confirmación de la especie por la metodología Maldi-tof, (Anexo G) basada en la ionización de una masa de células (colonias) ya sean bacterias o levaduras, mediante un pulso láser. Estos iones ya pulverizados pasan por una columna y son detectados en diferentes tiempos debido a que las diferentes partículas cuentan con mayor o menor masa, generando espectros que finalmente serán comparadas con los patrones almacenados en la computadora. (Váradi et al., 2017).

La determinación del número de colonias aisladas de *Malassezia sp.* (segunda variable dependiente) se hizo en el último día de seguimiento. Esto a partir de contar todas las colonias confirmadas de *Malassezia sp.* (indiferentemente de la especie) en un agar determinado mediante el uso de una lupa convencional. Esta información se utilizó para el análisis estadístico de tipo descriptivo y analítico. Adicionalmente, se anotó el número de colonias aisladas según el tipo de *Malassezia sp.*, pero esto solo fue utilizado para el análisis estadístico de tipo descriptivo. Esta sección fue realizada por la investigadora principal de este estudio con ayuda del asesor estadístico.



### **3.6.5 Finalización de la recolección de datos**

La recolección de datos finalizó con la transcripción de toda la información escrita en la ficha de recolección de datos, a una base de datos de Excel de la investigadora de este estudio.

### **3.7 Análisis de datos**

La descripción de las variables cualitativas se realizó mediante el cálculo de las frecuencias absolutas y relativas. En el caso de las numéricas, se realizó mediante la mediana debido a que estos datos no siguieron una curva de distribución normal (valores p menores de 0.05). Esta evaluación de la normalidad se realizó mediante la prueba de Shapiro-Wilk (Anexo H).

Finalmente, para evaluar si se encontraron diferencias significativas entre el número de colonias generado por el agar convencional vs. el nuevo, se aplicó la prueba de Mann-Whitney (debido que se deseó comparar dos grupos, y la variable número de colonias no fue normal).

Los valores p menores de 0.05 se consideraron como estadísticamente significativos, y se utilizó el software STATA versión 17.0.

### **3.8. Consideraciones éticas**

Este proyecto de investigación se presentó a la Unidad de Diseño y Elaboración de Proyectos de Investigación de la OEAIDE (Oficina Ejecutiva de Apoyo a la Investigación y Docencia Especializada), del INSN sede Breña y fue aprobado por el Comité Institucional de ética en Investigación de dicha institución el 01 de diciembre del 2021, lo cual fue documentado en el Oficio N° 291-2021-CIEI-INSN (Anexo D).

En este proyecto de investigación no se aplicaron consentimientos informados debido a que se trabajó con las muestras de hisopados ya procesados en la rutina del laboratorio, es decir, no se trabajó con pacientes directamente. Adicionalmente, no se recolectó información personal de los pacientes (como nombres, DNI, teléfono u otros) o algún otro tipo de datos que pueda afectar su identidad.

## IV. RESULTADOS

### 4.1. Descripción general

Con respecto a las muestras de los pacientes, de las cuales se realizaron los hisopados, se obtuvo las siguientes características (**tabla 3**):

- La mediana del tamaño del área de la lesión evaluada fue de 2 cm<sup>2</sup>.
- Los tipos de placa de piel encontradas con mayor y menor frecuencia fueron la blanquecina (38.9%) y querión (1.1%).

**Tabla 3**

*Características del paciente evaluado*

<b>Tipo de máculas</b>	<b>N (%)</b>
<b>Área de la lesión (cm<sup>2</sup>)</b>	2 <sup>a</sup>
<b>Tipo de placa de piel</b>	
Blanquecina	35 (38.9)
Alopecia	11 (12.2)
Rosada	3 (3.3)
Rojiza	19 (21.2)
Descamativa	21 (23.3)
Querión	1 (1.1)

*Nota.* AC: Agar convencional. AN: Agar nuevo. <sup>a</sup>Mediana

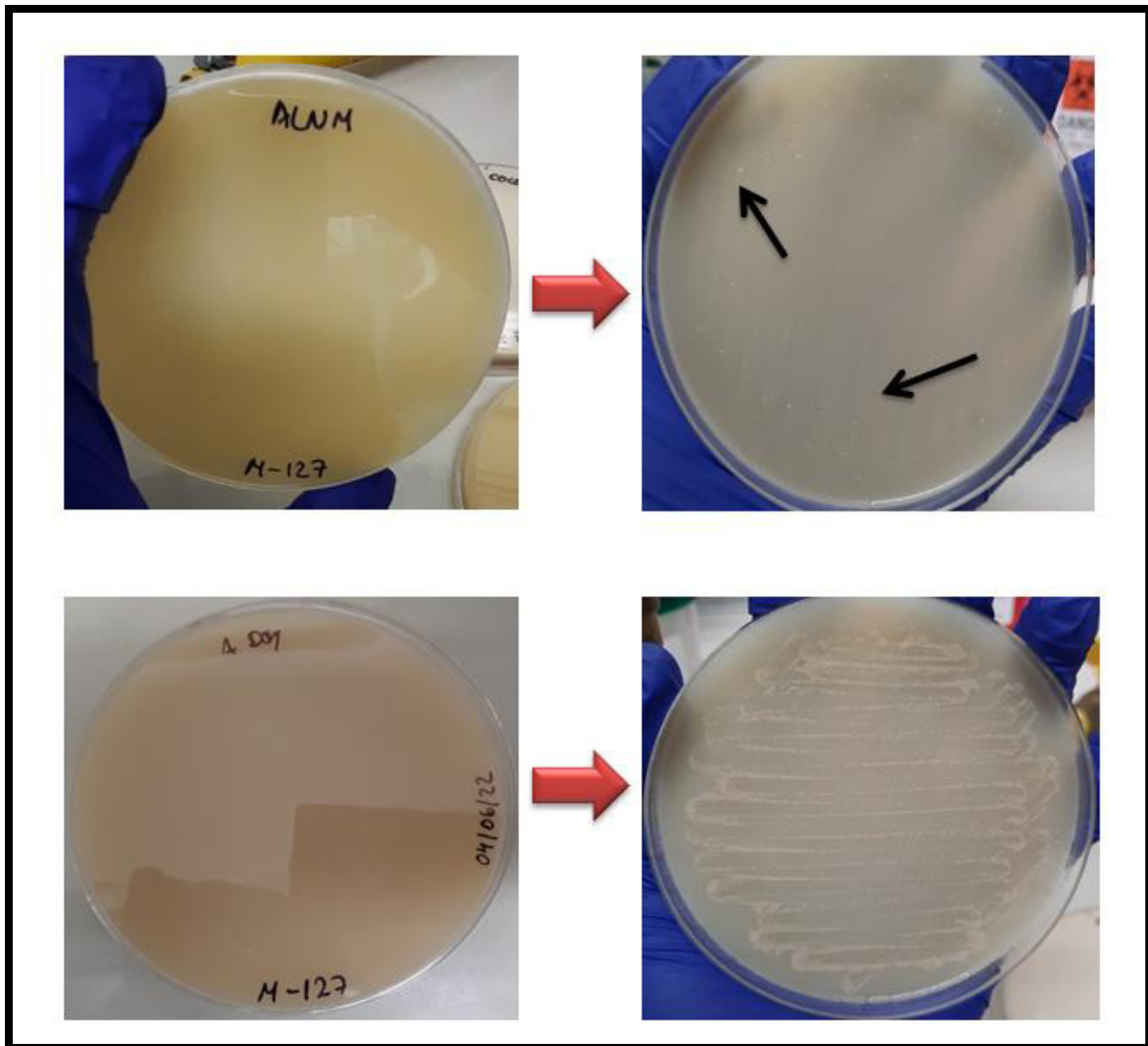
#### 4.2. Comparación de los resultados entre los agares evaluados

Se encontraron los siguientes resultados:

- Tanto para el agar convencional como para el nuevo propuesto, se encontraron las mismas frecuencias de aislamiento de hongos, siendo *Malassezia furfur* la más frecuente (23.3%) (**tabla 4**), además de que no encontraron medios de cultivo con crecimiento al mismo tiempo de *Malassezia* y de otro hongo coinfectante.
- Tanto para el agar convencional como para el nuevo propuesto, se encontraron las mismas medianas de los días en que se aisló *Malassezia sp.*, la cual fue de 0 días. **Tabla 4**
- La mediana del número de colonias de hongos aislados fue significativamente mayor en el agar nuevo propuesto (4 colonias), en comparación con el agar convencional (1 colonia) ( $p=0.0251$ ). **Tabla 5, Figura 2.**

## Figura 2

### Comparación de resultados



Nota. Podemos observar ambos medios de cultivo: Agar Leeming y Notman modificado suplementado con aceite de oliva (ALNM) donde hay un escaso crecimiento de colonias, indicado por las flechas negras; en comparación con el Agar propuesto (ADey) suplementado con aceite de coco, donde se observa gran cantidad de masas blancas que son las colonias. Ambos medios de cultivo fueron monitoreados hasta el tercer día, en el cual se evidenció el crecimiento de colonias. Este es un ejemplo de los resultados obtenidos en el laboratorio. Demostrando así todo lo expuesto en la sección 4.2.

**Tabla 4**

Comparación de los resultados entre los agares evaluados

	N (%)
<b>Aislamiento de hongos - AC</b>	
No	57 (63.4)
<i>Malassezia furfur</i>	21 (23.3)
<i>Trichophyton tonsurans</i>	5 (5.6)
<i>Microsporum canis</i>	3 (3.3)
<i>Candida lusitaneae</i>	1 (1.1)
<i>Microsporum gypseum</i>	1 (1.1)
<i>Rodotorula sp.</i>	1 (1.1)
<i>Trichophyton rubrum</i>	1 (1.1)
<b>Aislamiento de hongos - AN</b>	
No	57 (63.4)
<i>Malassezia furfur</i>	21 (23.3)
<i>Trichophyton tonsurans</i>	5 (5.6)
<i>Microsporum canis</i>	3 (3.3)
<i>Candida lusitaneae</i>	1 (1.1)
<i>Microsporum gypseum</i>	1 (1.1)
<i>Rodotorula sp.</i>	1 (1.1)
<i>Trichophyton rubrum</i>	1 (1.1)
<b>Número de colonias<sup>a</sup> - AC</b>	<b>1<sup>a</sup></b>
<b>Número de colonias<sup>a</sup> - AN</b>	<b>4<sup>a</sup></b>
<b>Día en el que se aisló <i>Malassezia sp.</i><sup>a</sup> - AC</b>	<b>0<sup>a</sup></b>
<b>Día en el que se aisló <i>Malassezia sp.</i><sup>a</sup> - AN</b>	<b>0<sup>a</sup></b>

Nota. AC: Agar convencional. AN: Agar nuevo. <sup>a</sup>Mediana

**Tabla 5**

Prueba de hipótesis para el número de colonias

Características	Agar utilizado		p†
	Convencional (n=90)	Nuevo (n=90)	
Número de colonias <sup>a</sup>	1	4	0.0251 <sup>b</sup>

*Nota.* †Valor p. <sup>a</sup>Mediana. <sup>b</sup>Prueba de Mann-Whitney.

## V. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Este estudio es el primero en el país en describir las áreas de lesión, donde se encontró como primer hallazgo, que las placas blanquecinas fueron las de mayor frecuencia (39.9%), esto podría correlacionarse con el aislamiento de *Malassezia sp.* como se describe en la literatura (Torres et al., 2008), la cual se halló con mayor frecuencia en este estudio (23.3%). Como se mencionó en el párrafo anterior, esta mayor frecuencia de aislamiento de *Malassezia sp.* se reportó de igual manera por Bejar et al. (2014), quienes trabajaron con población asintomática es decir que no tenían problema de salud de la piel, en la cual se halló en una proporción de 43.4%, a diferencia de este estudio que se trabajó con pacientes derivados de consultorios que sí presentaban sintomatología. Esta diferencia podría deberse a que esta levadura forma parte de la flora normal de la piel, sin embargo, en la literatura se ha reportado que este hongo puede comportarse como un oportunista y causar fungemia, convirtiéndose en una levadura de importancia significativa, por ende se deben seguir construyendo bases sobre esta en la investigación científica.

Se ha reportado que el agar Dixon modificado es el mejor para aislar *Malassezia sp.* (Vaishali y Nayan, 2018), pero este estudio ha demostrado como segundo hallazgo, que tanto el agar Leeming y Notman suplementado con aceite de oliva o con aceite de coco son útiles para el aislamiento de *Malassezia sp.* debido a que en estos el hongo que con mayor frecuencia (23.3%) se aisló, fue, precisamente, *Malassezia sp.* Así mismo cabe resaltar que el agar Leeming y Notman utiliza menos componentes para su preparación en el laboratorio a comparación del agar Dixon modificado.

Algunas investigaciones comprobaron que el aceite de coco tiene poder antibacteriano frente a *Listeria monocytogenes* y *Listeria ivanovii* (Escalante, 2015), de igual manera actúa frente a *Streptococcus mutans* (Vásquez, 2018), es por esta razón que en esta investigación, como tercer hallazgo, no hubo contaminación bacteriana en ningún agar. Sin embargo, el aceite

de coco no presenta propiedades antimicóticas (Carrasco y Miranda, 2021; Sonco Mayta, 2018), es por ello que sí hubo crecimiento de otros hongos en el agar propuesto. Descartando así que el aceite de coco tenga propiedades antifúngicas contra algunos hongos patógenos.

Como cuarto hallazgo, esta tesis ha demostrado que el agar Leeming y Notman suplementado con aceite de coco tiene mejor desempeño para el aislamiento de *Malassezia sp.* con respecto al número de colonias halladas en comparación con el medio de cultivo tradicional. Lo mismo sucede con un estudio similar (Manna et al., 2015) que utilizó una preparación de agar leche de coco y lo comparó con el agar Dixon modificado, concluyendo que el agar que utilizó leche de coco fue el mejor para aislar *Malassezia sp.* pues se aisló dicha levadura en menor cantidad de días. Esto se debe a que la leche de coco posee los ácidos grasos necesarios para el desarrollo de esta levadura lipofílica tales como el ácido láurico, presente también en el aceite de coco.

Se optó en esta investigación trabajar con este insumo por la mayor cantidad de ácidos grasos de cadenas medianas y largas, sin embargo, existe otro estudio donde se opta por usar diferentes aceites tales como la mantequilla, aceite de almendras y aceite de coco, donde se demostró que el aceite de mantequilla es mejor en comparación con los otros aceites mencionados (Sudarsan et al., 2015). Siendo la mantequilla un aceite más accesible en costo, pero se desconoce el tipo de esta y sus componentes ya que existen variedad de marcas de esta en el mercado.

Se ha observado en diversos laboratorios, que el examen directo es el determinante para emitir un reporte sobre *Malassezia sp.*, sin identificar la especie, lo cual es válido. Sin embargo, desde el punto de vista científico, se estaría perdiendo información útil pues al identificar las especies de *Malassezia* se podría dar un tratamiento adecuado. Es por esta razón que esta tesis tiene como fortaleza de ser la primera en el Perú en proponer el reemplazo de aceite de oliva por el aceite de coco en el medio de cultivo Leeming y Notman modificado para que se pueda



aislar una mayor cantidad de cepas aisladas de este hongo, y que posteriormente se realice la identificación de la especie. Además, es más económica, y accesible para los laboratorios, y no solo ello, también contiene una mayor cantidad de ácidos grasos de cadena mediana a larga favorables para el desarrollo de este hongo.

Como potencial limitación, se tendría que la prueba de asimilación del tween, requiere de algunos insumos con alto costo tal es el caso de Tween 40 y Cremophor, que ayudan a confirmar la especie de *Malassezia* aislada, lo cual también podría ser una limitación para los laboratorios que deseen implementarlo.

## VI. CONCLUSIONES

- En respuesta al primer objetivo, se concluye que el tipo de agar utilizado no se asoció con el aislamiento de *Malassezia*, pero sí con el número de colonias.
- Con respecto al segundo objetivo se concluye que la mediana del área de lesión fue de 2 cm<sup>2</sup>, predominaron lesiones leves como son las áreas blanquecinas en la piel, en comparación con las lesiones graves como el querion.
- Finalmente en respuesta al tercer objetivo se concluye que no se encontraron diferencias significativas entre el aislamiento y el día de crecimiento para *Malassezia sp.*, entre ambos agares utilizados, pero sí con respecto al número de colonias. Ello significa que ambos agares son útiles para aislar esta levadura, pero el agar suplementado con aceite de coco permite el crecimiento de una mayor cantidad de colonias.

## VII. RECOMENDACIONES

- En primer lugar se sugiere buscar otros medios alternativos que hagan que este nuevo agar propuesto sea más económico y accesible para el laboratorio, como por ejemplo, el agar Sabouraud suplementado con aceite de coco, sería una muy buena alternativa o incluso probar con nuevas fuentes lipídicas.
- Posteriormente se sugiere trabajar siempre con hisopados de piel al momento de sembrar en el agar Leeming y Notman con aceite de coco, pues se obtuvo un buen desarrollo de colonias. No se recomienda trabajar con raspado de piel, pues según la experiencia de la investigadora de este proyecto, este tipo de muestra debe sembrarse con asa de nicrom por agotamiento y se observó que no hay desarrollo de colonias de muestras con examen directo positivo, por el motivo de que la distribución de la muestra en la placa, no es adecuada.
- Finalmente, al notar crecimiento de otros hongos patógenos, se recomienda no utilizar el medio de cultivo propuesto para la identificación de estas especies, pues solo se observaron hifas, mas no el desarrollo de macroconidias o microconidias que podrían ayudar en la identificación (en este estudio se confirmaron estas especies por el crecimiento en otros agares como el Sabouraud y Mycocell, que son parte de la rutina del laboratorio), es por esta razón que se reafirma que el agar propuesto solo sirve para el aislamiento de *Malassezia sp.*

## VIII. REFERENCIAS

- Arenas Guzmán, R. (2008) *Micología: médica ilustrada*. (3ª ed.). Mc Graw Hill.
- Bejar, V., Rojas, C., Guevara, J. M., Pareja, E., Huaman, A., Sevilla, R. et al (2014). Identificación de especies de *Malassezia* aisladas de piel sana en pobladores de Lima, Perú. *Anales de la Facultad de Medicina. UNMSM*, 75(2), 173-176. [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1025-55832014000200013&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-55832014000200013&lng=es&tlng=es).
- Bejar, V., Villanueva, F., Guevara, J. M., González, S., Vergaray, G., Abanto, E. et al (2014). Epidemiología de las dermatomicosis en 30 años de estudio en el Instituto de Medicina Tropical Daniel A Carrión, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú. *Anales de la Facultad de Medicina. UNMSM*, 75(2), 167-172. [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1025-55832014000200013&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-55832014000200013&lng=es&tlng=es).
- Cabañes, F. J. (2019). *Malassezia pachydermatis: ¿Ser o no ser lipodependiente?* [https://www.researchgate.net/publication/332753978\\_Malassezia\\_pachydermatis\\_ser\\_o\\_no\\_ser\\_lipodependiente](https://www.researchgate.net/publication/332753978_Malassezia_pachydermatis_ser_o_no_ser_lipodependiente)
- Carrasco Castro, C. A., & Miranda Patiño, L. D. (2021). *Actividad sinérgica antimicótica del extracto metanólico Piper aduncum (matico) y aceite de Cocos nucifera (COCO) frente a Candida albicans in vitro*. [Tesis de pregrado, Universidad María Auxiliadora] Repositorio Institucional UMA. <https://hdl.handle.net/20.500.12970/470>
- Casillas, A. L. S., Martínez, R. F. F., Coutiño, G. M., y Arenas, R. (2014) Pityriasis versicolor and *Malassezia spp*: A review. *Dermatología cosmética, médica y quirúrgica*, 12(1), 52-57. <https://www.medigraphic.com/pdfs/cosmetica/dcm-2014/dcm141k.pdf>

- Damme Pedraza, M. S. (2014) *Aislamiento e identificación de levaduras del género Malassezia spp. En porcinos de producción en Cundinamarca-Colombia* [Tesis de grado, Pontificia Universidad Javeriana]. Colombia. Repositorio PUJ: <http://hdl.handle.net/10554/16668>
- Dhanablan, R., Mohammed, I. A., Aruchamy, A., & Manibharathi, K. (2022). Study of Optimal Growth Parameter of *Malassezia furfur* MTCC 1374 and Screening for Lipid Media Enhancing Optimal Growth Phases. *Journal of Drug and Alcohol Research*, 11(5), 1-7. <https://www.ashdin.com/articles/study-of-optimal-growth-parameter-of-malassezia-furfur-mtcc-1374-and-screening-for-lipid-media-enhancing-optimal-growth-phases-92673.html>
- Díaz Muñoz, G. (2020). Metodología del estudio piloto. *Revista chilena de radiología*, 26(3), 100-104. <https://doi.org/10.4067/S0717-93082020000300100>
- Douriet-Marín, F. A. y Padilla-Desgarenes, M. D. C. (2016) Identificación morfológica, frecuencia y características de *Malassezia spp.* en pacientes con psoriasis en placas y sujetos sanos. *Dermatología Revista Mexicana*, 60(3), 219-228. <https://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=aph&AN=117243097&lang=en&site=eds-live>.
- Erchiga, V. C., Palomo, M. C. y Moyano, E. G. (2008) Diagnóstico de laboratorio de las levaduras del género *Malassezia*. *Piel*, 23(10), 570-576. [https://doi.org/10.1016/S0213-9251\(08\)75801-5](https://doi.org/10.1016/S0213-9251(08)75801-5).
- Escalante, M. A. (2015) *Determinación de la Sensibilidad de Listeria monocytogenes y Listeria ivanovii frente a diferentes concentraciones del aceite esencial de Cocos nucifera* [Tesis de pregrado, Universidad Nacional de Trujillo]. Repositorio UNT: <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/4540>

- Garau, M., Palacio, A. D. y Garcia, J. (2005) Prevalence of *Malassezia spp.* in healthy pigs. *Mycoses*, 48(1), 17-20. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0507.2004.01048.x>
- Giusiano, G. (2006) *Malassezia*. Estado del conocimiento y perspectivas en su estudio. *Revista argentina de microbiología.*, 38(1), 41-48. [http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0325-75412006000100012&lng=es&tlng=en](http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0325-75412006000100012&lng=es&tlng=en).
- Guillot, J., Guého, E., Lesourd, M., Midgley, G. y Chevrier, G. (1996) Identification of *Malassezia* species: a practical approach. *Journal de mycologie médicale (Paris)*, 6(3), 103-110. [https://www.researchgate.net/publication/279895481\\_Identification\\_of\\_Malassezia\\_species\\_A\\_practical\\_approach](https://www.researchgate.net/publication/279895481_Identification_of_Malassezia_species_A_practical_approach)
- Harrison, I. S., Monir, R. L., Neu, J., & Schoch, J. J. (2022). Neonatal sepsis and the skin microbiome. *Journal of Perinatology*, 42(11), 1429-1433. <https://doi.org/10.1038/s41372-022-01451-0>
- Hidalgo, T. (2018). Tablas de composición de ácidos grasos. Obtenido de <https://hidalgotomasth.files.wordpress.com/2014/09/aceite-tablas-composicion-acidosgrasos.pdf>
- Jourdain, R., Moga, A., Magiatis, P., Fontanié, M., Velegraki, A., Papadimou, C., Rahoul, V., Guéniche, A., Chopra, T., & Gaitanis, G. (2023). *Malassezia restricta*-mediated Lipoperoxidation: A Novel Trigger in Dandruff. *Acta dermato-venereologica*, 103, adv00868. <https://doi.org/10.2340/actadv.v103.4808>
- Manna, A., Manna, J., Gangopadhyay, D., Ray, R. y Maiti, P. K. (2015) A study of growth and physiological characteristics of *Malassezia furfur* on indigenously developed Coconut milk agar medium. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci*, 4(5), 1005-1014. [https://www.researchgate.net/publication/369334290\\_Original\\_Research\\_Article\\_A\\_s](https://www.researchgate.net/publication/369334290_Original_Research_Article_A_s)

tudy\_of\_growth\_and\_physiological\_characteristics\_of\_Malassezia\_furfur\_on\_indigenously\_developed\_Coconut\_milk\_agar\_medium

- Mora, E., Carrasco, A., Muñoz, V., Salinas, R., Huerta, S., Noriega, E., y Landeros, E.. (2015). Características de la prueba piloto: Revisión de artículos publicados en enfermería. *Revista de Enfermería Neurológica*, 14(3), 169-175. <https://doi.org/10.37976/enfermeria.v14i3.212>
- Morros, T. J., González-Cuevas, A., Ortega, J. A., Almagro, C. M., Hernando, J. M., Giralt, A. G., y Otín, C. L. (2002) Colonización cutánea neonatal por *Malassezia* spp. *Anales de Pediatría*, 57(5), 452-456. [https://doi.org/10.1016/S1695-4033\(02\)77964-2](https://doi.org/10.1016/S1695-4033(02)77964-2)
- Parihar, A. S., Kumar, V., Sinha, A., & Sharma, S. (2019). Characterization of *Malassezia furfur* and its control by using plant extracts. *IJCS*, 7(5), 550-553. <https://doi.org/10.4103/0019-5154.26942>
- Puig Carles, L. (2017) *Estudio fenotípico y molecular de Malassezia pachydermatis y Malassezia furfur aisladas de animales* [Tesis doctoral, Universidad Autónoma de Barcelona]. España. <http://hdl.handle.net/10803/456307>
- Pürnak S, Durdu M, Tekindal MA, Güleç AT, Seçkin D. (2018) The Prevalence of *Malassezia* Folliculitis in Patients with Papulopustular/ Comedonal Acne, and Their Response to Antifungal Treatment. *Skinmed*, 16(2), 99-104. [https://www.researchgate.net/publication/325855283\\_The\\_Prevalence\\_of\\_Malassezia\\_Folliculitis\\_in\\_Patients\\_with\\_PapulopustularComedonal\\_Acne\\_and\\_Their\\_Response\\_to\\_Antifungal\\_Treatment](https://www.researchgate.net/publication/325855283_The_Prevalence_of_Malassezia_Folliculitis_in_Patients_with_PapulopustularComedonal_Acne_and_Their_Response_to_Antifungal_Treatment)
- Ros, E., López-Miranda, J., Picó, C., Rubio, M. Á., Babio, N., Sala-Vila, A. et al. (2015) Consenso sobre las grasas y aceites en la alimentación de la población española adulta: postura de la Federación Española de Sociedades de Alimentación, Nutrición y

- Dietética (FESNAD). *Nutrición hospitalaria*, 32(2), 435-477.  
<https://dx.doi.org/10.3305/nh.2015.32.2.9202>
- Rossi Paredes, G. C. (2019) *Efecto cicatrizante del aceite de Cocos Nucifera L. Coco en heridas de animales de experimentación* [Tesis de pregrado, Universidad Católica de Santa María]. Perú. <https://repositorio.ucsm.edu.pe/handle/20.500.12920/9592>
- Rudramurthy, S. M., Honnavar, P., Chakrabarti, A., Dogra, S., Singh, P., & Handa, S. (2014). Association of *Malassezia* species with psoriatic lesions. *Mycoses*, 57(8), 483-488.  
<https://doi.org/10.1111/myc.12186>
- Salah, I. B., Makni, F., Cheikhrouhou, F., Neji, S., Sellami, H. y Ayadi, A. (2010) Les levures du genre *Malassezia*: pathologie, milieux d'isolement et d'identification. *Journal de mycologie Médicale*, 20(1), 53-60. <https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2009.11.006>
- Sánchez, D. G., y Ríos, G. L. (2002) Manejo de la palma de coco (*Cocos nucifera L.*) en México. *Revista Chapingo. Serie ciencias forestales y del ambiente*, 8(1), 39.  
<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=62980105>
- Sudarsan, P. y Chandrababu, K. (2015) Anti-microbial studies using sulphur nano particles on dandruff causing *Malassezia* yeasts. In *Proceedings of the World Congress on Engineering. Vol. 2*. [https://www.researchgate.net/publication/340446024\\_Anti-Microbial\\_Studies\\_Using\\_Sulphur\\_Nano\\_Particles\\_on\\_Dandruff\\_Causing\\_Malassezia\\_Yeasts](https://www.researchgate.net/publication/340446024_Anti-Microbial_Studies_Using_Sulphur_Nano_Particles_on_Dandruff_Causing_Malassezia_Yeasts)
- Torres, E., Arenas, R. y Atoche-Diéguez, C. (2008) Infecciones causadas por el género *Malassezia*. *Med Cutan Iber Lat Am*, 36(6), 265-284.  
<https://www.medigraphic.com/pdfs/cutanea/mc-2008/mc086b.pdf>
- Vaishali, N. y Nayan, R. (2017) *Isolation and Characterization of dandruff causing fungi & effect of some plant extracts on it*.  
<https://api.semanticscholar.org/CorpusID:212596506>



Váradi, L., Luo, J., Hibbs, D., Perry, J., Anderson, R., Orenga, S., y Groundwater, P. (2017).

Methods for the detection and identification of pathogenic bacteria: Past, present, and

future. *Chemical Society Reviews*, 46(16), 4818-4832.

<https://doi.org/10.1039/c6cs00693k>

Vásquez, G. P. (2018) *Efecto antibacteriano in vitro de aceite de Cocus nucifera sobre*

*Streptococcus mutans ATCC 25175* [Tesis de pregrado, Universidad Nacional de

Trujillo]. <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/11078>

## IX. ANEXOS

## Anexo A. Matriz de consistencia

<b>Formulación del problema</b>	<b>Objetivos</b>	<b>Hipótesis</b>	<b>Variables</b>	<b>Diseño metodológico</b>
Problema General:	Objetivo General:	Hipótesis General:	Dependientes	Tipo de investigación
¿El aislamiento y número de colonias aisladas de <i>Malassezia spp</i> estará asociado con el tipo de agar utilizado en hisopados de piel del Instituto Nacional de Salud del Niño durante marzo- Noviembre del 2022?	Determinar si el aislamiento y número de colonias aisladas de <i>Malassezia spp</i> . Estará asociado con el tipo de agar utilizado en hisopados de piel del Instituto Nacional de Salud del Niño durante Marzo-Noviembre del 2022.	El aislamiento y número de colonias aisladas de <i>Malassezia sp.</i> sí estarán asociados con el tipo de agar utilizado en hisopados de piel del Instituto Nacional de Salud del Niño durante Marzo-Noviembre del 2022, esto puede ser demostrado de manera numérica.	Aislamiento de <i>Malassezia sp.</i> Número de colonias de <i>Malassezia sp.</i>	Enfoque comparativo, observacional de corte longitudinal.

Problemas Específicos:	Objetivos Específicos:	Hipótesis general	Independiente	Población y muestra
<p>¿Cuáles son las características de las variables área de lesión y tipo de placa en hisopados de piel del Instituto Nacional de Salud del Niño durante Marzo-Noviembre del 2022?</p> <p>¿Existirán diferencias entre las variables aislamiento de hongos, número de colonias y día que se aisló <i>Malassezia sp.</i> del agar convencional con el agar nuevo en hisopados de piel del Instituto Nacional de Salud del Niño durante marzo-Noviembre del 2022?</p>	<p>Describir las variables área de la lesión y tipo de placa de piel en hisopados de piel del Instituto Nacional de Salud del Niño durante Marzo-Noviembre del 2022.</p> <p>Comparar las variables aislamiento de hongos, número de colonias y día en que se aisló <i>Malassezia sp.</i> en el agar convencional del agar nuevo en hisopados de piel del Instituto Nacional de Salud del Niño durante Marzo-Noviembre del 2022.</p>	<p>El aislamiento y número de colonias aisladas de <i>Malassezia sp.</i> no estarán asociados con el tipo de agar utilizado en hisopados de piel del Instituto Nacional de Salud del Niño durante Marzo-Noviembre del 2022, esto puede ser demostrado de manera numérica.</p>	<p>Agar Leeming y Notman modificado suplementado con Aceite de Cocos Nucifera</p>	<p>Todos los hisopados de piel provenientes del servicio de microbiología del Instituto Nacional de Salud del Niño de Breña durante los meses de Marzo a Noviembre del 2022. Total de 180 hisopados de piel.</p>

## Anexo B. Cálculo de tamaño de muestra y muestreo

**[1] Tamaños de muestra. Comparación de proporciones independientes:****Datos:**

Proporción esperada en:	
Población 1:	24,300%
Población 2:	44,000%
Razón entre tamaños muestrales:	1,00
Nivel de confianza:	95,0%

**Resultados:**

Potencia (%)	Tamaño de la muestra*		
	Población 1	Población 2	Total
80,0	90	90	180

**[1] Muestreo simple aleatorio:****Datos:**

Tamaño de la población:	450
Tamaño de la muestra:	180

**Número de los sujetos seleccionados:**

441	21	373	245	6	156	300
209	203	251	187	207	18	357
444	308	374	388	443	123	427
160	322	151	298	34	348	428
398	52	387	389	32	353	51
244	140	15	269	114	376	327
131	29	192	227	133	401	224
310	276	363	127	338	397	9
91	291	24	121	33	38	149
375	364	408	200	84	275	377
77	119	319	153	213	150	99
358	128	382	61	225	178	202
90	445	220	147	417	410	249
446	349	81	238	384	135	315
103	339	228	41	266	422	356
369	23	343	313	120	197	189
215	4	100	274	177	344	318
148	78	222	154	126	65	395
42	80	182	136	171	210	390
134	106	67	16	76	109	145
366	73	448	161	433	370	5
272	11	49	368	314	199	437
242	261	430	223	341	359	243
111	102	371	75	351	232	47
168	62	165	172	190	236	361
235	246	152	283	97		

Anexo C. Ficha de Recolección de datos

**FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS**

Fecha de siembra:
-------------------

Tipo de muestra: \_\_\_\_\_

Descripción de la lesión: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Examen directo (KOH/Kane): \_\_\_\_\_

**Agar con aceite de coco**

**Agar Leeming y Notman modificado**

Días	1	2	3	4	5	6	7
N° colonias							

Días	1	2	3	4	5	6	7
N° colonias							

**Descripción de colonias:**

**Descripción de colonias:**

C1: \_\_\_\_\_

C1: \_\_\_\_\_

C2: \_\_\_\_\_

C2: \_\_\_\_\_

**Pruebas bioquímicas:**

**Pruebas bioquímicas:**

Catalasa:

Catalasa:

Hidrólisis de esculina:

Hidrólisis de esculina:

Asimilación del Tween:

Asimilación del Tween:

- 20:
- 40:
- 60:
- 80:

- 20:
- 40:
- 60:
- 80:

**Especie aislada:** \_\_\_\_\_

**Especie aislada:** \_\_\_\_\_

**Hongo coinfectante:** \_\_\_\_\_

**Hongo coinfectante:** \_\_\_\_\_

Obs: \_\_\_\_\_

Obs: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Anexo D. Aprobación del proyecto de investigación



PERU

MINISTERIO DE  
SALUDINSTITUTO NACIONAL DE  
SALUD DEL NIÑO

"Decenio de la Igualdad de Oportunidades para mujeres y hombre

"Año del Bicentenario del Perú: 200 años de Independencia"

Lima, 01 de diciembre de 2021

**OFICIO N° 291-2021-CIEI-INSN**

Srta.

**DEYNA XIOMARA ESTRADA ZÁRATE**Investigadora principal del proyecto de investigación **PI-04/20**

Presente. -

Asunto: Se aprueba la renovación de vigencia del proyecto de investigación **PI-04/20**, titulado "Asociación del aislamiento y número de colonias aisladas de *Malassezia* SPP con el tipo de agar utilizado en hisopados de piel del Instituto Nacional de Salud del Niño Breña durante Enero - Marzo del 2021".

De mi mayor consideración:

Es grato dirigirme a usted para saludarla cordialmente y asimismo informarle que con relación al proyecto de investigación **PI-04/20**, titulado: "*Asociación del aislamiento y número de colonias aisladas de Malassezia SPP con el tipo de agar utilizado en hisopados de piel del Instituto Nacional de Salud del Niño Breña durante Enero - Marzo del 2021*",

El Comité Institucional de Ética en Investigación del Instituto Nacional de Salud del Niño, en su sesión virtual N° 23-2021 de fecha 01 de diciembre de 2021, ha acordado la **APROBACIÓN DE LA RENOVACIÓN DE VIGENCIA DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**, para lo cual se indica lo siguiente:

1. La renovación de vigencia es desde el 18 de noviembre de 2021 al 17 de noviembre de 2022.
2. Toda enmienda o adenda que requiera el Protocolo debe ser presentado al CIEI y no podrá implementarla sin la debida aprobación.
3. Según reglamento deben presentar 01 informe de avance cumplidos los 06 meses y el informe final debe ser presentado al año de su aprobación.
4. Los trámites para su renovación deberán iniciarse 30 días antes de su vencimiento y deberá presentarse juntamente con el informe de avance correspondiente.

Sin otro particular, quedo de Ud.,

Atentamente,

MINISTERIO DE SALUD  
INSTITUTO NACIONAL DE SALUD DEL NIÑO  
*[Firma]*  
DRA. MARÍA DEL CARMEN GASTAÑAGA RUÍZ  
C.M.A. PABLO NEIRAZ  
PRESIDENTE  
COMITÉ INSTITUCIONAL DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN  
**DRA. MARÍA DEL CARMEN GASTAÑAGA RUÍZ**  
Presidente del Comité Institucional de Ética en Investigación,  
*Instituto Nacional de Salud del Niño*

[www.insn.gob.pe](http://www.insn.gob.pe)

Av. Brasil 600  
Breña. Lima 5, Perú  
T (511) 330-0066

Anexo E. Insumos para la preparación de agares.

**-Preparación de agar Leeming y Notman Modificado**

Peptona bacteriológica.....	10 g
Glucosa anhidra.....	10 g
Extracto de levadura.....	2.0 g
Bilis de buey disecada/ deshidratada.....	8.0 g
Glycerol.....	10 ml
Glycerol monoesterato.....	0,5 g
Tween 60.....	5.0 ml
Aceite de oliva.....	20 ml
Agar.....	15 g
Agua destilada.....	1 L
Cloranfenicol.....	1 cápsula

**- Preparación de agar Leeming y Notman con aceite de coco**

Peptona bacteriológica.....	10 g
Glucosa anhidra.....	10 g
Extracto de levadura.....	2.0 g
Bilis de buey disecada/ deshidratada.....	8.0 g
Glycerol.....	10 ml
Glycerol monoesterato.....	0,5 g
Tween 60.....	5.0 ml
Aceite de coco.....	20 ml
Agar.....	15 g
Agua destilada.....	1 L
Cloranfenicol.....	1 cápsula

## Anexo F. Preparación de los medios de cultivo



Se mezclan y hierven todos los componentes en la preparación de ambos medios de cultivo.



Seguidamente se envasan en frascos limpios para autoclavar.

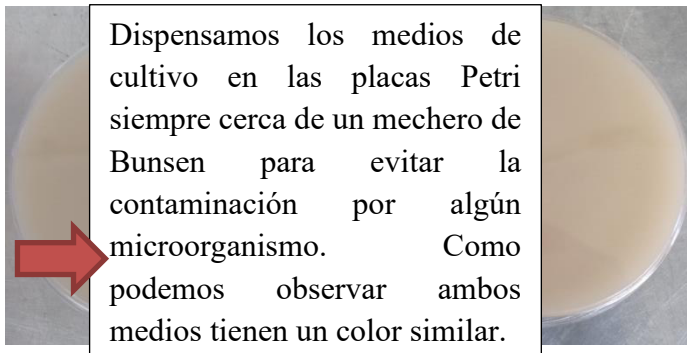


Luego se deja enfriar a T° ambiente o a 45°C en baño maría para comenzar a dispensar los medios de cultivo en las placas Petri. Previamente desinfectamos con un antiséptico la mesa de trabajo.



Es muy importante homogenizar el medio cada 5 minutos, pues el aceite por ser menos denso, sube hacia la superficie y produce bifase en el medio.





Anexo G. Cepas de *Malassezia furfur* confirmadas por Maldit-of

MINISTERIO DE SALUD DE PERÚ  
**INSTITUTO NACIONAL DE SALUD**  
 ORGANISMO PÚBLICO EJECUTOR DEL SECTOR SALUD  
 "Investigar para proteger la salud"

## INFORME DE RESULTADO

<b>PACIENTE</b>		<b>FECHA DE NACIMIENTO</b>	
<b>ESTABLECIMIENTO</b>	INSTITUTO NACIONAL DE SALUD DEL NIÑO		
<b>MÉDICO</b>			
<b>DOC REFERENCIA</b>	1582022SMDIDADINSN		
<b>ENFERMEDAD</b>	MICOSIS	<b>FECHA DE OBTENCION DE MUESTRA</b>	09/08/2022
<b>LABORATORIO</b>	MICOLOGIA	<b>FECHA DE RECEPCION LAB REG</b>	
<b>TIPO DE MUESTRA</b>	CEPA	<b>FECHA DE RECEPCION EN INS</b>	09/08/2022
<b>CODIGO DE MUESTRA</b>	ins080396722		

## PRUEBAS

<b>CULTIVO</b>	Fecha: 19/08/2022	Resp. Prueba:	Flor Urcia Ausejo	Resp. Verificador:	Flor Urcia Ausejo
----------------	-------------------	---------------	-------------------	--------------------	-------------------

## VALORES REFERENCIALES

Cultivo	Malassezia furfur
---------	-------------------

Interpretación:

Observaciones:



COORD. DE LABORATORIO:  
Flor Urcia Ausejo

Capac Yupanqui 1400 Telefono 4719920 Jesus Maria Lima 11

Fecha: 31/08/2022 Hora: 3:34 p.m.



MINISTERIO DE SALUD DE PERÚ  
**INSTITUTO NACIONAL DE SALUD**  
 ORGANISMO PÚBLICO EJECUTOR DEL SECTOR SALUD  
*"Investigar para proteger la salud"*

INFORME DE RESULTADO

<b>PACIENTE</b>		<b>FECHA DE NACIMIENTO</b>
<b>ESTABLECIMIENTO</b>	INSTITUTO NACIONAL DE SALUD DEL NIÑO	
<b>MÉDICO</b>		
<b>DOC REFERENCIA</b>	1582022SMDIDADINSN	
<b>ENFERMEDAD</b>	MICOSIS	
<b>LABORATORIO</b>	MICOLOGIA	<b>FECHA DE OBTENCION DE MUESTRA</b> 09/08/2022
<b>TIPO DE MUESTRA</b>	CEPA	<b>FECHA DE RECEPCION LAB REG</b>
<b>CODIGO DE MUESTRA</b>	ins080396822	<b>FECHA DE RECEPCION EN INS</b> 09/08/2022

**PRUEBAS**

<b>CULTIVO</b>	Fecha: 19/08/2022	Resp. Prueba:	Flor Urcia Ausejo	Resp. Verificador:	Flor Urcia Ausejo
----------------	-------------------	---------------	-------------------	--------------------	-------------------

Cultivo	Malassezia furfur
---------	-------------------

**VALORES REFERENCIALES**

Interpretación:

Observaciones:



COORD. DE LABORATORIO:  
Flor Urcia Ausejo

Capac Yupanqui 1400 Telefono 4719920 Jesus Maria Lima 11

Fecha: 31/08/2022 Hora: 3:38 p.m.

<https://www.netlab.ins.gob.pe>

 Usted se encuentra en una zona segura

## Anexo H. Evaluación de la normalidad

```
. swilk NC if TIPODEAGAR==0
```

```
Shapiro-Wilk W test for normal data
```

Variable	Obs	W	V	z	Prob>z
NC	90	0.71256	21.742	6.791	0.00000

```
. swilk NC if TIPODEAGAR==1
```

```
Shapiro-Wilk W test for normal data
```

Variable	Obs	W	V	z	Prob>z
NC	90	0.78288	16.423	6.173	0.00000

```
. swilk ALcm2
```

```
Shapiro-Wilk W test for normal data
```

Variable	Obs	W	V	z	Prob>z
ALcm2	180	0.77931	30.046	7.787	0.00000

```
. swilk DSA if TIPODEAGAR==1
```

```
Shapiro-Wilk W test for normal data
```

Variable	Obs	W	V	z	Prob>z
DSA	90	0.84205	11.947	5.471	0.00000

```
. swilk DSA if TIPODEAGAR==0
```

```
Shapiro-Wilk W test for normal data
```

Variable	Obs	W	V	z	Prob>z
DSA	90	0.84811	11.489	5.385	0.00000